·论著·

lncRNA ABHD11-AS1通过调控miR-133a-3p/*SLC6A1*轴影响肾癌细胞增殖与侵袭

向威，吕磊，郑福鑫，袁敬东，黄遂斌
（武汉市第一医院泌尿外科，武汉 430022）

摘要 目的 分析长链非编码RNA（lncRNA）ABHD11-AS1在肾透明细胞癌（ccRCC）及肾癌细胞系中的表达情况，并探索其潜在功能和作用机制。**方法** 应用GEPIA2软件分析癌症基因组图谱（TCGA）数据库，比较ABHD11-AS1在ccRCC与正常肾脏组织中的表达差异；实时定量PCR检测ABHD11-AS1在ccRCC、正常肾脏组织及肾癌细胞系（ACHN、786-O、A498、SN12-PM6细胞）中的表达；并对ABHD11-AS1在肾癌细胞中的亚细胞定位进行分析。用MTT实验、Transwell实验、实时定量PCR、Western blotting检测ABHD11-AS1、miR-133a-3p对肾癌细胞增殖、侵袭及SLC6A1表达的影响。用双萤光素酶报告基因实验分析ABHD11-AS1与miR-133a-3p，miR-133a-3p与*SLC6A1*的靶向关系。**结果** GEPIA2软件分析与实时定量PCR检测结果显示，与正常肾脏组织比较，ABHD11-AS1在ccRCC中高表达（$P < 0.05$）；与永生化肾小管上皮细胞系HK-2细胞相比，ABHD11-AS1在肾癌细胞系ACHN、786-O及SN12-PM6细胞中均高表达，且在786-O细胞中表达最为显著。亚细胞定位实验显示，ABHD11-AS1主要分布于786-O细胞的细胞质中。敲减ABHD11-AS1后，786-O细胞增殖与侵袭能力明显下降，*SLC6A1* mRNA和蛋白表达均显著降低（$P < 0.05$）。双萤光素酶报告基因实验显示，ABHD11-AS1与miR-133a-3p，miR-133a-3p与*SLC6A1*存在靶向关系。过表达miR-133a-3p可降低786-O细胞中*SLC6A1* mRNA和蛋白表达，而下调miR-133a-3p则产生相反的效果。miR-133a-3p下调可增强786-O细胞增殖和侵袭活力，而敲减*SLC6A1*可部分逆转miR-133a-3p下调对786-O细胞增殖和侵袭的促进作用（$P < 0.05$）。同时，miR-133a-3p下调也可部分逆转ABHD11-AS1敲减对786-O细胞增殖、侵袭及SLC6A1表达的抑制效应（$P < 0.05$）。**结论** ABHD11-AS1通过调控miR-133a-3p/*SLC6A1*轴在ccRCC中发挥促癌作用，影响肾癌细胞的增殖与侵袭。

关键词 肾透明细胞癌；ABHD11-AS1；miR-133a-3p/*SLC6A1*轴
中图分类号 R737.11 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646（2025）08-0754-08
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250728.1842.030
DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.08.014

lncRNA ABHD11-AS1 affects the proliferation and invasion of renal cancer cells by regulating the miR-133a-3p/*SLC6A1* axis

XIANG Wei，LÜ Lei，ZHENG Fuxin，YUAN Jingdong，HUANG Suibin
（Department of Urology，Wuhan No.1 Hospital，Wuhan 430022，China）

Abstract Objective To analyze the expression of long non-coding RNA（lncRNA）ABHD11-AS1 in clear cell renal cell carcinoma（ccRCC）and renal cancer cell lines，and explore its potential functions and mechanisms of action. **Methods** The bioinformatics tool GEPIA2 software was used to analyze The Cancer Genome Atlas（TCGA）database and compare the expression levels of ABHD11-AS1 in ccRCC and normal kidney tissues. Real-time quantitative PCR was performed to assess ABHD11-AS1 expression in ccRCC tissues，normal kidney tissues，and renal cancer cell lines. Subcellular localization experiments were performed to determine the subcellular localization of ABHD11-AS1 in renal cancer cells. The MTT assay，Transwell assay，real-time quantitative PCR，and Western blotting were used to detect the effects of ABHD11-AS1 and miR-133a-3p on the proliferation，invasion，and expression of SLC6A1 in renal cancer cells. A dual-luciferase reporter gene experiments was performed to validate the binding effect of ABHD11-AS1 to miR-133a-3p and the effect of miR-133a-3p on *SLC6A1*. **Results** GEPIA2 software and real-time quantitative PCR analyses indicated that ABHD11-AS1 was highly expressed in ccRCC tissues compared to normal kidney tissues（$P < 0.05$）. Compared to the immortalized renal tubular epithelial cell line HK-2 cells，the expression of ABHD11-AS1 was significantly upregulated in the ACHN，786-O，and SN12-PM6 cells，with the highest expression observed in 786-O cells. The results of the subcellular localization experiments indicated that ABHD11-AS1 was primarily distributed in the cytoplasm of 786-O cells. ABHD11-AS1 knockdown reduced the proliferative and invasive abilities of 786-O cells and

基金项目：国家自然科学基金（82002708）
作者简介：向威（1985-），男，副主任医师，博士.
通信作者：黄遂斌，E-mail：springhuang14@sina.com
收稿日期：2024-11-03
网络出版时间：2025-07-29 13:53:30

decreased *SLC6A1* mRNA and protein expression ($P < 0.05$). Dual-luciferase reporter gene experiments demonstrated that ABHD11-AS1 targets and binds to miR-133a-3p, which in turn binds to *SLC6A1*. Overexpression of miR-133a-3p reduced the mRNA and protein levels of SLC6A1 in 786-O cells, whereas downregulation of miR-133a-3p had the opposite effect. Downregulation of miR-133a-3p enhanced the proliferation and invasion of 786-O cells, while knockdown of *SLC6A1* partially reversed the promoting effect of miR-133a-3p downregulation on the proliferation and invasion of 786-O cells ($P < 0.05$). Simultaneously, downregulation of miR-133a-3p could also partially reverse the inhibitory effects of ABHD11-AS1 knockdown on 786-O cell proliferation, invasion, and SLC6A1 expression ($P < 0.05$). **Conclusion**　ABHD11-AS1 exerts a pro-cancer effect on ccRCC by regulating the miR-133a-3p/*SLC6A1* axis, which influences the proliferation and invasion of renal cancer cells.

Keywords　clear cell renal cell carcinoma; ABHD11-AS1; miR-133a-3p/*SLC6A1* axis

肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是肾脏恶性肿瘤中常见的类型,其发病机制仍未明确。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过200 nt的RNA分子,已被证实在ccRCC等多种肿瘤发生发展中发挥重要作用[1-2]。YANG等[3]报道,lncRNA MAGI2-AS3可通过竞争性结合miR-142-3p,解除miR-142-3p对*STAM* mRNA的抑制作用,从而上调*STAM*表达,最终抑制ccRCC进展。XU等[4]研究表明,lncRNA AGAP2-AS1通过调节miR-9-5p/THBS2/PI3K-Akt通路促进ccRCC进展。此外,lncRNA LBX2-AS1被证实通过线粒体吞噬促进ccRCC细胞增殖和迁移[5]。这些研究表明,lncRNA是调控ccRCC生物学进展过程的重要因素。近年研究发现,ABHD11-AS1在肺癌[6]、胃癌[7]、结直肠癌[8]、宫颈癌[9]、卵巢癌[10]等肿瘤中高表达,促进肿瘤细胞的恶性生物学进展。然而,关于ABHD11-AS1在ccRCC中表达及其作用机制的研究鲜有报道。因此,本研究检测了ABHD11-AS1在ccRCC组织及其细胞系中的表达,探讨ABHD11-AS1表达对肾癌细胞生物学行为的影响及其潜在的作用机制。

1　材料与方法

1.1　临床资料

收集2021年10月至2023年6月武汉市第一医院泌尿外科28例行根治性肾切除术ccRCC患者的肿瘤组织及配对正常肾组织标本,其中男20例,女8例,年龄59~79岁,平均年龄(67.96 ± 5.17)岁。所有患者均经病理确诊为ccRCC,且术前未接受放化疗、靶向治疗或免疫治疗等。本研究获得我院伦理委员会批准,审批号为2021IEC(S014),患者均知情同意并签署知情同意书。标本收集后–80 ℃保存备用。

1.2　细胞和主要试剂

肾癌细胞系ACHN、786-O、A498、SN12-PM6细胞及人永生化肾小管上皮细胞系HK-2细胞(购自上海酶联生物科技有限公司)由本研究组保存,细胞置于37 ℃、5%CO_2的培养箱内培养。DMEM培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司,胰酶、总RNA提取试剂TRIzol、核质分离试剂盒(PARIS™)及lipofectamine® 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司;实时定量PCR与逆转录试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司;*GAPDH*、ABHD11-AS1及*SLC6A1*引物由生工生物工程(上海)股份有限公司提供;*U6*、miR-133a-3p引物、miR-133a-3p模拟物/抑制剂及各阴性对照购自广州锐博生物科技有限公司;RNA免疫沉淀试剂盒购自广州伯信生物科技有限公司;MTT试剂盒购自上海碧云天生物技术股份有限公司;ABHD11-AS1干扰序列分别为:si-ABHD11-AS1#1, 5'- TCCACCTGACAGCAACATCAA-3';si-ABHD11-AS1#2, 5'-CTGGACCAAGTCCTCCAGGAA-3';si-ABHD11-AS1#3, 5'- CTGGAGGTCCTGGAGGAGAAA -3'。*SLC6A1*干扰序列分别为:si-SLC6A1, GCTACAACTCTTTCCACAAC-3';阴性对照(si-NC)序列,5'- GCCTCACTATCCATACAACTA-3'。上述ABHD11-AS1、*SLC6A1*干扰序列及si-NC序列均由上海吉玛制药技术有限公司设计合成。野生型双萤光素酶载体(WT ABHD11-AS1、WT *SLC6A1* 3'UTR)与突变型双萤光素酶载体(MUT ABHD11-AS1、MUT *SLC6A1* 3'UTR)亦由上海吉玛制药技术有限公司合成。SLC6A1(#23207)与GAPDH(#2118)抗体购自美国Cell Signaling 技术公司,Ago2抗体购自英国abcam公司,二抗购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.3　细胞分组

将待转染的细胞经胰酶消化后种入培养板内,至细胞生长融合达70%时进行转染实验,将细胞分

为：si-NC组（转染si-NC）、si-ABHD11-AS1组（转染si-ABHD11-AS1）、mimic NC组（转染mimic NC）、miR-133a-3p mimic组（转染miR-133a-3p mimic）、anti-miR-NC组（转染anti-miR-NC）、anti-miR-133a-3p组（转染anti-miR-133a-3p）、anti-miR-133a-3p+si-SLC6A1组（anti-miR-133a-3p与 si-SLC6A1共转染）、si-NC+anti-miR-NC组（si-NC与anti-miR-NC共转染）、si-ABHD11-AS1+anti-miR-NC组（si-ABHD11-AS1与anti-miR-NC共转染）及si-ABHD11-AS1+anti-miR-133a-3p组（si-ABHD11-AS1 与anti-miR-133a-3p共转染）。

1.4　实验方法

1.4.1　MTT实验：将786-O细胞接种入96孔板，使细胞密度为1.0×10^3/孔，按实验分组分别加入各转染试剂，转染24、48、72、96 h后收集细胞，按照MTT试剂盒说明书采用分光光度计检测570 nm处各组细胞吸光度值。

1.4.2　Transwell实验：将各转染组786-O细胞悬浮于不含血清的DMEM培养液中，细胞密度为1.0×10^5/mL，取200 μL种入含基质胶的Transwell上室内，下室加入600 μL含10%胎牛血清的DMEM培养液。将细胞置入培养箱内培养24 h，其后用含4%多聚甲醛的PBS液对下室细胞进行固定，0.1%结晶紫染色，然后显微镜下观察、拍照并计数。

1.4.3　实时定量PCR：采用TRIzol法提取ccRCC组织及肾癌细胞系（ACHN、786-O、A498、SN12-PM6细胞）的总RNA，逆转录生成cDNA，应用实时定量PCR试剂盒检测各基因表达量。引物序列分别为：ABHD11-AS1，正向5'-TCTCCACCTGACAGCAACATC-3'，反向5'-CTTGGTCCAGGGAGGGTTCT-3'；*SLC6A1*，正向5'-ACAATGTCTACAGGGACTCCAT-3'，反向5'-CCTCTGGGTATGCCAGGAAC-3'；*GAPDH*，正向 5'-TCTTTTGCGTCGCCAGCC-3'，反向5'-GTTCTCAGCCTTGACGGTGC-3'；miR-133a-3p，正向5'-TTTGGTCCCCTTCAACCAGCTG-3'，反向5'-AGTGCAGGGTCCGAGGT-3'；*U6*，正向5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATAC-3'，反向 5'-AAATATGGAACGCTTCACGAATTTG-3'。*GAPDH*、*U6*为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算基因的相对表达量。

1.4.4　Western blotting：通过RIPA法提取各转染组细胞的总蛋白，采用BCA法对蛋白质浓度进行测定，随后按Western blotting实验步骤进行SDS凝胶电泳、转膜、封闭、洗膜、一抗孵育、再次洗膜、二抗孵育、膜带ECL化学发光检测等过程。

1.4.5　亚细胞定位：应用PARIS™核质分离试剂盒对786-O细胞的细胞核与细胞质RNA分离、纯化后进行逆转录反应及实时定量PCR检测，分析ABHD11-AS1在786-O细胞中的亚细胞定位。

1.4.6　双萤光素酶报告基因实验：miRcode在线软件（http://www.mircode.org/）及starBase v3.0软件（https://rnasysu.com/encori/index.php）的预测结果显示，ABHD11-AS1与miR-133a-3p有潜在结合的位点，而miR-133a-3p与*SLC6A1* 3'UTR区亦存在可能结合的位点。依此分别构建含上述结合位点的野生型（WT ABHD11-AS1、WT *SLC6A1* 3'UTR）或突变型（MUT ABHD11-AS1、MUT *SLC6A1* 3'UTR）双萤光素酶报告基因载体。按照双萤光素酶报告基因实验的操作说明将上述载体分别与mimic NC或miR-133a-3p mimic共转染，48 h后检测786-O细胞中萤光素酶的活性。

1.4.7　RNA结合蛋白免疫沉淀（RNA immunoprecipitation，RIP）检测：应用RNA免疫沉淀试剂盒提取786-O细胞的总RNA，随之加入蛋白A/G磁珠（Ago2抗体预孵育）进行免疫沉淀反应，继而经RNA纯化、逆转录反应生成cDNA，最后采用实时定量PCR进行检测分析，评估ABHD11-AS1、miR-133a-3p与Ago2的结合能力。

1.5　统计学分析

使用SPSS 27.0软件进行统计分析，所有实验重复3次。计量资料采用$\bar{x}\pm s$表示，2组比较采用独立样本t检验，多组比较则采用单因素方差分析，$P<0.05$为差异有统计学意义。

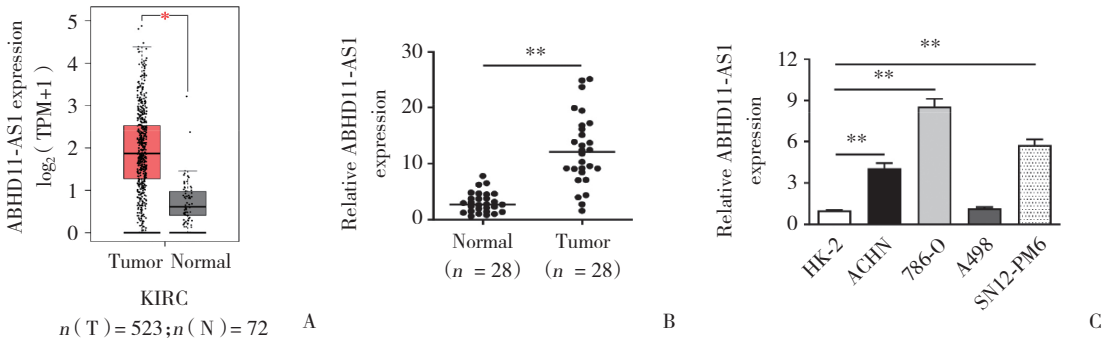
2　结果

2.1　ABHD11-AS1在ccRCC组织及细胞系中的表达

GEPIA2软件（http://gepia2.cancer-pku.cn/#index）分析结果显示，与正常肾脏组织比较，ABHD11-AS1在ccRCC组织中表达升高（$P<0.05$，图1A）；临床收集的28例ccRCC组织及其配对正常肾脏组织实时定量PCR检测结果显示，与正常肾脏组织比较，ABHD11-AS1在ccRCC组织中的表达明显上调（$P<0.01$，图1B）。实时定量PCR结果显示，与HK-2细胞相比，ABHD11-AS1在ACHN、786-O、SN12-PM6细胞

中均呈高表达，以786-O细胞表达升高最为显著（$P<0.01$，图1C）。因此，后续实验均使用786-O细胞完成。

2.2　下调ABHD11-AS1表达对肾癌细胞增殖与侵袭能力的影响

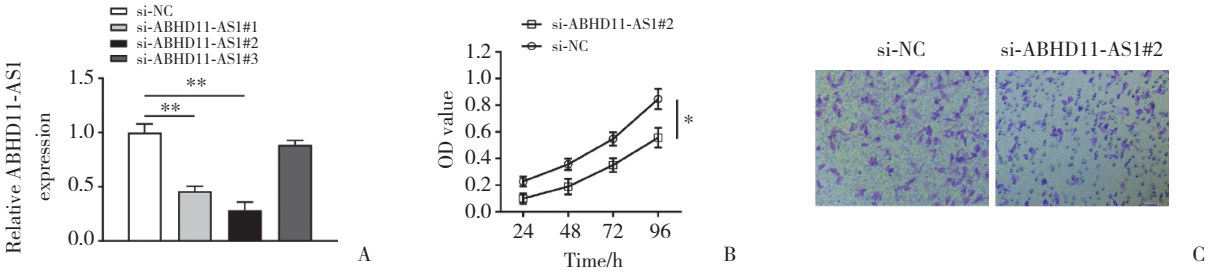


A，the expression of ABHD11-AS1 in ccRCC tissues in The Cancer Genome Atlas database；B，the expression of ABHD11-AS1 in clinical specimens of ccRCC；C，the expression of ABHD11-AS1 in ccRCC cell lines. $^*P<0.05$，$^{**}P<0.01$.

图1　ABHD11-AS1在肾透明细胞癌组织与肾癌细胞系中的表达

Fig.1　Expression of ABHD11-AS1 in ccRCC tissues and renal cancer cell lines

向786-O细胞转染ABHD11-AS1的干扰序列，结果显示，与si-NC组相比，si-ABHD11-AS1#1组和si-ABHD11-AS1#2组786-O细胞中ABHD11-AS1表达显著降低，si-ABHD11-AS1#2的沉默效率最高（$P<0.01$，图2A）。MTT实验结果显示，si-ABHD11-AS1#2组786-O细胞在24、48、72、96 h增殖活力均低于si-NC组（$P<0.05$，图2B）。Transwell实验结果显示，si-ABHD11-AS1#2组（0.39 ± 0.04）786-O细胞侵袭能力低于si-NC组（1.00 ± 0.05，$P<0.01$；图2C）。表明下调ABHD11-AS1表达可抑制肾癌细胞的增殖与侵袭。



A，the siRNA interference efficiency of ABHD11-AS1；B，cellular viability；C，cell invasion ability (× 100). $^*P<0.05$，$^{**}P<0.01$.

图2　ABHD11-AS1对786-O细胞增殖与侵袭的影响

Fig.2　Effect of ABHD11-AS1 on proliferation and invasion of 786-O cells

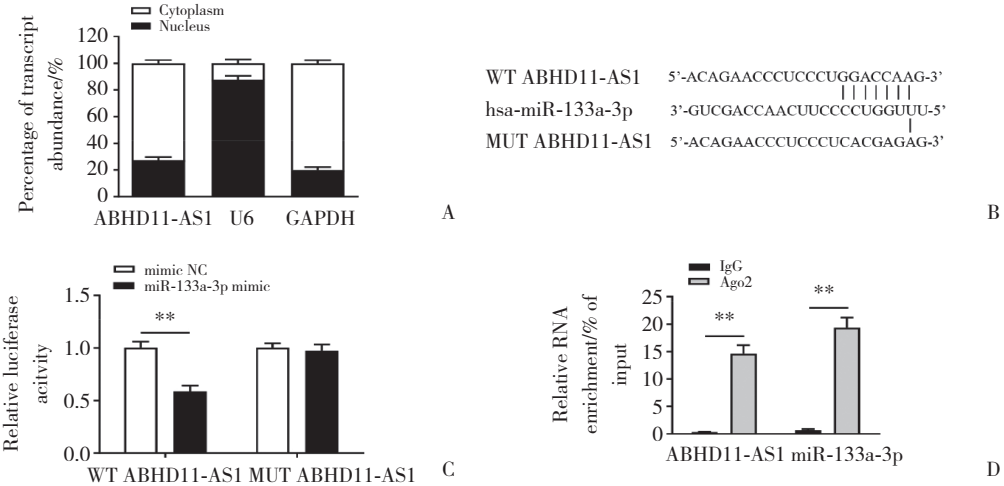
2.3　ABHD11-AS1与miR-133a-3p的靶向关系

亚细胞定位实验结果显示，ABHD11-AS1主要分布于786-O细胞的细胞质中（图3A）。miRcode在线软件预测发现ABHD11-AS1与miR-133a-3p有潜在的结合位点（图3B）。双萤光素酶报告基因实验结果显示，miR-133a-3p mimic与WT ABHD11-AS1共转染可显著降低786-O细胞的萤光素酶活性（$P<0.01$），而miR-133a-3p mimic与MUT ABHD11-AS1共转染对786-O细胞的萤光素酶活性无显著影响（$P>0.05$，图3C）。RIP实验显示，与IgG组相比，Ago2组786-O细胞中miR-133a-3p 或ABHD11-AS1的富集量增加（均$P<0.01$，图3D）。这些结果表明，ABHD11-AS1在肾癌细胞中可靶向结合miR-133a-3p。

2.4　miR-133a-3p靶向*SLC6A1*对肾癌细胞增殖与侵袭的影响

通过starBase v3.0软件对miR-133a-3p靶基因进行预测，发现miR-133a-3p与*SLC6A1* 3’UTR区有潜在的结合位点（图4A）。实时定量PCR与Western blotting结果显示，与mimic NC组比较，miR-133a-3p mimic组786-O细胞中*SLC6A1* mRNA与蛋白表达降低（$P<$

0.01）；而与anti-miR-NC组比较，anti-miR-133a-3p组786-O细胞中*SLC6A1* mRNA与蛋白表达增加（$P<0.01$），见图4B~4D。双萤光素酶报告基因实验结果显示，786-O细胞中miR-133a-3p mimic降低了WT *SLC6A1* 3'UTR组的萤光素酶活性（$P<0.01$），见图4E。MTT实验显示，与anti-miR-NC组相比，anti-miR-133a-3p组786-O细胞在24、48、72、96 h增殖活力均增强（均$P<0.05$）；与anti-miR-133a-3p组相比，anti-miR-133a-3p+si-SLC6A1组786-O细胞在24、48、72、96 h增殖活力均降低（均$P<0.05$，图4F）。Transwell实验显示，与anti-miR-NC组比较，anti-miR-133a-3p组786-O细胞侵袭能力增强（$P<0.05$）；与anti-miR-133a-3p组比较，anti-miR-133a-3p+si-SLC6A1组786-O细胞侵袭能力降低（$P<0.05$，图4G、4H）。表明miR-133a-3p通过靶向*SLC6A1* 3'UTR负向调控SLC6A1表达，从而抑制肾癌细胞的增殖与侵袭。



A，subcellular localization；B，the binding sites between ABHD11-AS1 and miR-133a-3p based on the miRcode online database；C，evaluation of ABHD11-AS1 and miR133a-3p using dual-luciferase reporter gene experiments；D，RIP assays were used to validate binding activity between ABHD11-AS1，miR-133a-3p and Ago2. $^{**}P<0.01$.

图3　ABHD11-AS1与miR-133a-3p的靶向关系

Fig.3　The targeting relationship between ABHD11-AS1 and miR-133a-3p

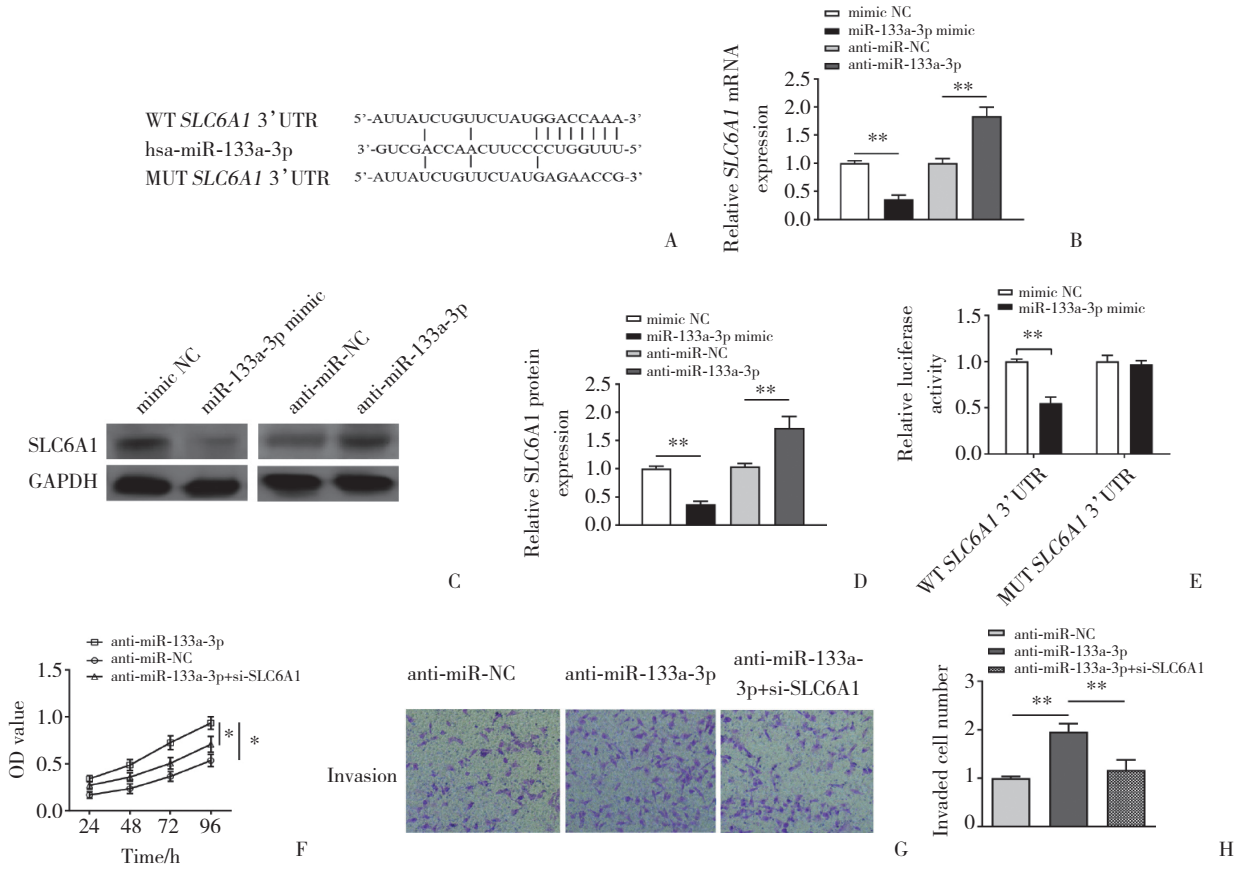
2.5　ABHD11-AS1调控miR-133a-3p/*SLC6A1*轴对肾癌细胞增殖与侵袭的影响

与si-NC组相比，si-ABHD11-AS1#2组786-O细胞*SLC6A1* mRNA与蛋白表达降低（$P<0.01$，图5A~5C）。MTT实验显示，与si-NC+anti-miR-NC组相比，si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-NC组786-O细胞在24、48、72、96 h的增殖活力降低（$P<0.01$）；而与si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-NC组相比，si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-133a-3p组786-O细胞在24、48、72、96 h的增殖活力增强（$P<0.05$，图5D）。Transwell实验显示，与si-NC+anti-miR-NC组相比，si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-NC组786-O细胞的侵袭能力降低（$P<0.01$）；与si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-NC组相比，si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-133a-3p组786-O细胞的侵袭能力增强（$P<0.05$，图5E、5F）。实时定量PCR与Western blotting结果显示，与si-NC+anti-miR-NC组比较，si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-NC组786-O细胞中*SLC6A1* mRNA与蛋白的表达降低（$P<0.01$）；而与si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-NC组比较，si-ABHD11-AS1#2+anti-miR-133a-3p组786-O细胞中*SLC6A1* mRNA与蛋白的表达增加（$P<0.05$，图5G~5I）。表明ABHD11-AS1通过miR-133a-3p调控SLC6A1表达，促进肾癌细胞的增殖与侵袭。

3　讨论

lncRNA在恶性肿瘤中异常表达，作为癌基因或抑癌基因在肿瘤进展中发挥关键的调控作用[11-12]。本研究通过分析癌症基因组图谱数据库发现，ABHD11-AS1在ccRCC组织中高表达。实时定量PCR检测ccRCC临床组织样本及肾癌细胞系不同肾癌细胞系中

ABHD11-AS1的表达结果显示，ABHD11-AS1在ccRCC组织样本及肾癌细胞系ACHN、786-O、SN12-PM6细胞中表达较对照组均明显上调，这与ABHD11-AS1在其他肿瘤中高表达的研究结果[6-9]一致，提示ABHD11-AS1可能在ccRCC中发挥癌基因作用。癌基因通过调控肿瘤细胞增殖、迁移或侵袭等生物学行为，促进肿瘤的恶性进展[1]。本研究选择ABHD11-AS1高表达的786-O细胞进行功能实验，结果显示，下调ABHD11-AS1显著抑制786-O细胞的增殖与侵袭，证明ABHD11-AS1参与了肾癌细胞增殖和侵袭的调控，并证实其在ccRCC中具有促癌作用。

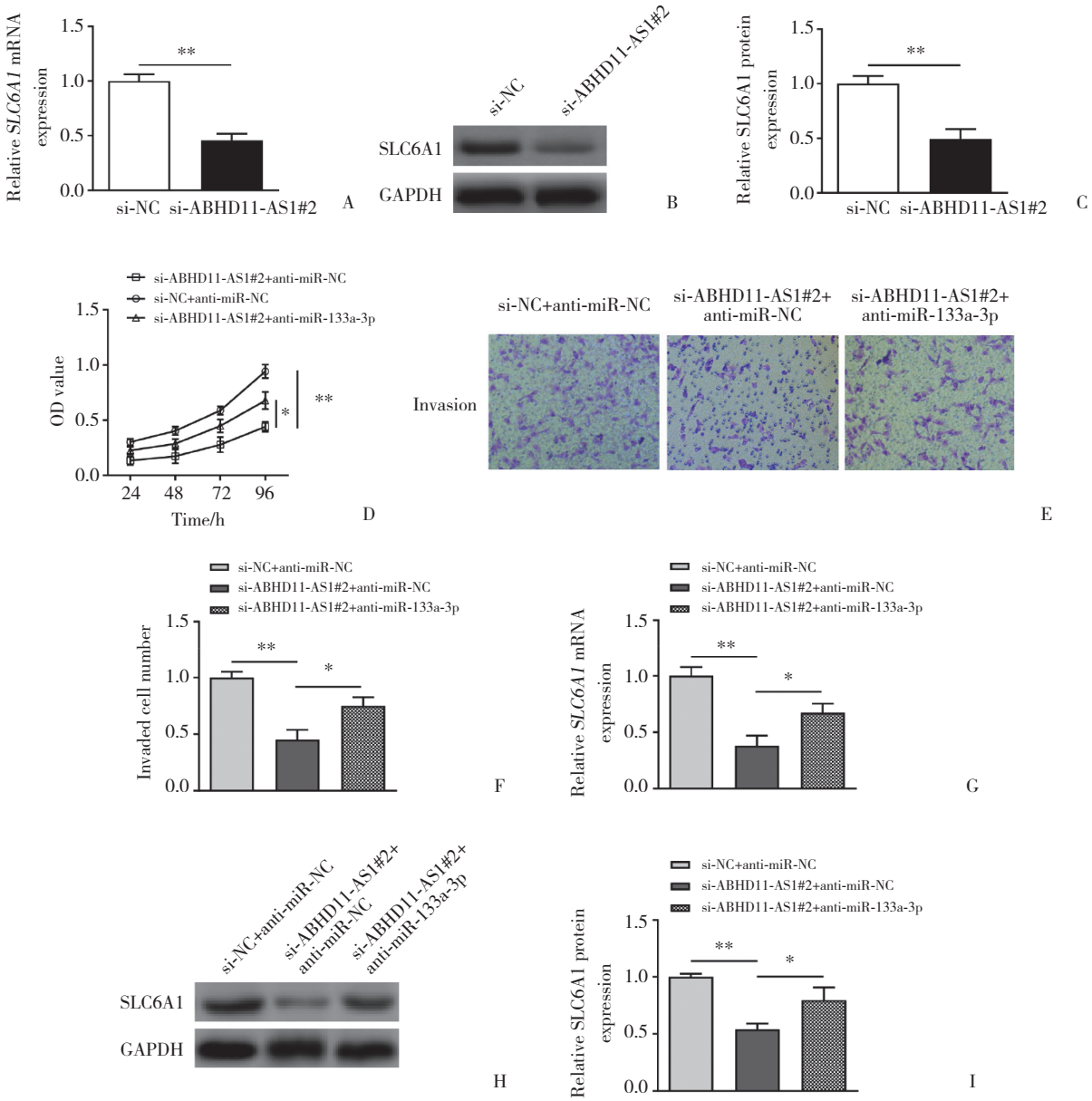


A，starBase database prediction of miR-133a-3p-*SLC6A1* 3'UTR binding sites；B，*SLC6A1* mRNA expression；C，D，SLC6A1 protein；E，the assessment of miR-133a-3p binding to *SLC6A1*；F，proliferation；G，H，cell invasion（× 100）. **P* < 0.05，***P* < 0.01.

图4　miR-133a-3p靶向SLC6A1对786-O细胞增殖与侵袭的影响

Fig.4　Effect of miR-133a-3p on proliferation and invasion of 786-O cells via targeting SLC6A1

已有研究[13]表明，lncRNA的亚细胞定位很大程度上决定其作用方式。核内lncRNA通常通过转录调控途径参与靶基因的表达调控，而细胞质lncRNA则通过转录后调控途径影响靶基因的表达。本研究通过亚细胞定位实验发现，ABHD11-AS1主要分布于786-O细胞的细胞质中，提示其可能在转录后层面调控下游靶基因。有研究[14]表明，许多细胞质lncRNA可作为“分子海绵”吸附微RNA（microRNA，miRNA），进而调控miRNA下游靶基因的表达。通过生物信息学软件预测、双萤光素酶报告基因实验及RIP实验，本研究证实ABHD11-AS1可靶向结合miR-133a-3p，发挥“分子海绵”作用，这与ABHD11-AS1在宫颈癌中通过竞争性结合miR-330-5p促进肿瘤进展的机制类似[9]。此外，ABHD11-AS1在其他肿瘤中展现了不同的分子机制。例如，肺癌中它通过与SART3相互作用，调控CD44 RNA的可变剪接，促进肺癌恶性转化[6]。胃癌中ABHD11-AS1通过上调原癌基因*c-Myc*促进糖酵解，加速肿瘤进展[7]。结直肠癌中ABHD11-AS1可通过TRIM21/IGF2BP2/ FOXM1正反馈回路促进癌细胞进展并抑制铁死亡[8]。这些差异可能与不同肿瘤的异质性及ABHD11-AS1在不同肿瘤细胞中的亚细胞定位差异有关。



A and G, the expression of *SLC6A1* mRNA; B, C, H and I, expression of SLC6A1 protein; D, proliferation; E, F, cell invasion capability (× 100). **P* < 0.05, ***P* < 0.01.

图5　ABHD11-AS1调控miR-133a-3p/*SLC6A1*轴对786-O细胞增殖与侵袭的影响

Fig.5　Effect of ABHD11-AS1 on 786-O cell proliferation and invasion via the miR-133a-3p/*SLC6A1* axis

已有研究表明，miR-133a-3p在多种人类恶性肿瘤的生物学进展中发挥调控作用。例如，在肺腺癌中，miR-133a-3p通过靶向GINS4抑制肿瘤进展和顺铂耐药[15]；在食管癌中，miR-133a-3p通过靶向CDCA8抑制肿瘤的恶性进展[16]；在肝癌中，miR-133a-3p介导了circ_KIAA1429促进肿瘤进展的作用[17]；而在肾癌中，miR-133a（即miR-133a-3p）通过靶向TAGLN2参与肿瘤细胞增殖、侵袭、凋亡及细胞周期的调控[18]。本研究通过功能实验发现，下调miR-133a-3p显著促进786-O细胞的增殖和侵袭，证实miR-133a-3p在肾癌中具有抑癌作用。为进一步探究其作用机制，本研究通过生物信息学预测、实时定量PCR及Western blotting检测发现，miR-133a-3p可负向调控*SLC6A1* mRNA及蛋白表达。一般而言，miRNA常通过与靶基因mRNA 3'UTR区域结合，进而抑制其表达[19]。本研究通过双萤光素酶报告基因实验证实，*SLC6A1*是miR-133a-3p的直接靶基因，miR-133a-3p通过靶向*SLC6A1* mRNA 的3'UTR区域抑制SLC6A1的表达。

作为离子通道转运蛋白家族一员，SLC6A1被发

现在多种人类肿瘤中异常表达。例如，在前列腺癌中，SLC6A1过表达被证实与前列腺癌耐药性和不良预后密切相关[20]；在卵巢癌中，SLC6A1高表达并参与调控肿瘤细胞的增殖、侵袭及迁移[21]；在ccRCC中，SLC6A1高表达并参与调控肿瘤细胞的生长与转移[22]。本研究中，下调*SLC6A1*可部分逆转miR-133a-3p沉默对786-O细胞增殖与侵袭的促进作用，表明miR-133a-3p通过负向调控*SLC6A1*抑制肾癌细胞的增殖与侵袭。进一步实验表明，ABHD11-AS1通过miR-133a-3p上调*SLC6A1*的表达，促进肾癌细胞的增殖与侵袭，提示ABHD11-AS1在调控miR-133a-3p/*SLC6A1*信号轴中发挥重要作用。

综上所述，ABHD11-AS1在ccRCC中呈高表达，并作为miRNA“分子海绵”特异性结合miR-133a-3p，从而在转录后层面解除miR-133a-3p对靶基因*SLC6A1*表达的抑制作用，进而促进肾癌细胞的增殖与侵袭。ABHD11-AS1/miR-133a-3p/*SLC6A1*轴的研究在一定程度上为ccRCC机制的拓展及潜在分子靶标的探寻提供了参考，但仍需进一步在体研究和大样本临床验证。

参考文献：

[1] NEMETH K，BAYRAKTAR R，FERRACIN M，et al. Non-coding RNAs in disease：from mechanisms to therapeutics [J]. Nat Rev Genet，2024，25（3）：211-232. DOI：10.1038/s41576-023-00662-1.

[2] 向威，吕磊，郑福鑫，等. SLC9A3-AS1调控miR-148a-3p/ROCK1信号轴影响肾癌细胞生物学功能 [J]. 华中科技大学学报（医学版），2024，53（2）：161-67. DOI：10.3870/j.issn.1672-0741.23.12.014.

[3] YANG RW，CHEN ZD，AO S，et al. LncRNA MAGI2-AS3 inhibites tumor progression by up-regulating STAM via interacting with miR-142-3p in clear cell renal cell carcinoma [J]. Cell Signal，2024，113：110954. DOI：10.1016/j.cellsig.2023.110954.

[4] XU P，FENG DX，WANG J，et al. lncRNA AGAP2 antisense RNA 1 stabilized by insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3 promotes macrophage M2 polarization in clear cell renal cell carcinoma through regulation of the microRNA-9-5p/THBS2/PI3K-Akt pathway [J]. Cancer Cell Int，2023，23（1）：330. DOI：10.1186/s12935-023-03173-5.

[5] WANG B，WEI YA，HAN T，et al. lncRNA LBX2-AS1 promotes proliferation and migratory capacity of clear cell renal cell carcinoma through mitophagy [J]. Eur J Med Res，2024，29（1）：103. DOI：10.1186/s40001-024-01690-1.

[6] WANG PS，LIU ZL，SWEEF O，et al. Long noncoding RNA ABHD11-AS1 interacts with SART3 and regulates CD44 RNA alternative splicing to promote lung carcinogenesis [J]. Environ Int，2024，185：108494. DOI：10.1016/j.envint.2024.108494.

[7] 冯雯，赖跃兴，王静，等. 长链非编码RNA ABHD11-AS1促进胃癌细胞糖酵解并加速肿瘤恶性进展 [J]. 南方医科大学学报，2023，43（9）：1485-1492. DOI：10.12122/j.issn.1673-4254.2023.09.05.

[8] BIAN YB，XU SF，GAO ZS，et al. m6A modification of lncRNA ABHD11-AS1 promotes colorectal cancer progression and inhibits ferroptosis through TRIM21/IGF2BP2/FOXM1 positive feedback loop [J]. Cancer Lett，2024，596：217004. DOI：10.1016/j.canlet.2024.217004.

[9] HOU SY，ZHANG XQ，YANG J. Long non-coding RNA ABHD11-AS1 facilitates the progression of cervical cancer by competitively binding to miR-330-5p and upregulating MARK2 [J]. Exp Cell Res，2022，410（1）：112929. DOI：10.1016/j.yexcr.2021.112929.

[10] ZHANG W，HUANG X，SHI JG. EZH2-mediated lncRNA ABHD11-AS1 promoter regulates the progression of ovarian cancer by targeting miR-133a-3p [J]. Anticancer Drugs，2021，32（3）：269-277. DOI：10.1097/CAD.0000000000001039.

[11] 高静，魏校通，李星晨，等. LINC01355通过miR-545-5p/FOXD1信号通路对口腔鳞状细胞癌细胞增殖、凋亡和侵袭的影响 [J]. 中国医科大学学报，2025，54（3）：238-245. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.03.010.

[12] 陈远航，何朗，谭卯，等. lncRNA FGD5-AS1调节miR-133a-3p/SPAG5轴对胃癌细胞迁移和侵袭的影响 [J]. 中国医科大学学报，2025，54（5）：401-406. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.05.004.

[13] ALKAN AH，AKGÜL B. Endogenous miRNA sponges [J]. Methods Mol Biol，2022，2257：91-104. DOI：10.1007/978-1-0716-1170-8_5.

[14] BRIDGES MC，DAULAGALA AC，KOURTIDIS A. LNCcation：lncRNA localization and function [J]. J Cell Biol，2021，220（2）：e202009045. DOI：10.1083/jcb.202009045.

[15] ZHOU YF，YAN JH，CHEN HG，et al. microRNA-133a-3p inhibits lung adenocarcinoma development and cisplatin resistance through targeting GINS4 [J]. Cells Tissues Organs，2024，213（1）：55-66. DOI：10.1159/000527684.

[16] WANG X，ZHU LH，LIN X，et al. miR-133a-3p inhibits the malignant progression of oesophageal cancer by targeting CDCA8 [J]. J Biochem，2022，170（6）：689-698. DOI：10.1093/jb/mvab071.

[17] ZHANG CP，HUANG XY. Circular RNA circ_KIAA1429 accelerates hepatocellular carcinoma progression via the miR-133a-3p/high mobility group AT-hook 2（HMGA2）axis in an m6A-dependent manner [J]. Hum Cell，2023，36（5）：1741-1754. DOI：10.1007/s13577-023-00933-3.

[18] KAWAKAMI K，ENOKIDA H，CHIYOMARU T，et al. The functional significance of miR-1 and miR-133a in renal cell carcinoma [J]. Eur J Cancer，2012，48（6）：827-836. DOI：10.1016/j.ejca.2011.06.030.

[19] HYNES C，KAKUMANI PK. Regulatory role of RNA-binding proteins in microRNA biogenesis [J]. Front Mol Biosci，2024，11：1374843. DOI：10.3389/fmolb.2024.1374843.

[20] CHEN CJ，CAI ZD，ZHUO YJ，et al. Overexpression of *SLC6A1* associates with drug resistance and poor prognosis in prostate cancer [J]. BMC Cancer，2020，20（1）：289. DOI：10.1186/s12885-020-06776-7.

[21] ZHAO Y，ZHOU XK，HE YY，et al. SLC6A1-miR133a-CDX2 loop regulates SK-OV-3 ovarian cancer cell proliferation，migration and invasion [J]. Oncol Lett，2018，16（4）：4977-4983. DOI：10.3892/ol.2018.9273.

[22] MAOLAKUERBAN N，AZHATI B，TUSONG H，et al. miR-200c-3p inhibits cell migration and invasion of clear cell renal cell carcinoma via regulating SLC6A1 [J]. Cancer Biol Ther，2018，19（4）：282-291. DOI：10.1080/15384047.2017.1394551.

（编辑　武玉欣）