

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.001  
View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.001>

· 论著 ·

## 载脂蛋白 M 对肾癌细胞增殖、迁移与侵袭的抑制作用

张艺博，姚霜，程港丽，喻妙梅，魏江，罗光华，郑璐

(苏州大学附属第三医院临床医学研究中心，江苏 常州 213003)

**[摘要]** 目的：研究人载脂蛋白M(apolipoprotein M, ApoM)对肾透明细胞癌细胞株(ACHN、769-P和786-O)增殖、迁移和侵袭能力的影响。方法：采用装载人ApoM基因的慢病毒和阴性对照组慢病毒分别感染肾癌细胞株，建立ApoM过表达组(ApoM-OE组)和阴性对照组(NC组)细胞模型。应用CCK-8增殖实验和克隆形成实验观察细胞增殖能力，采用细胞划痕实验检测细胞迁移能力，采用Transwell实验检测细胞侵袭能力。结果：ApoM过表达后，ACHN和769-P过表达组细胞在72 h增殖能力显著降低(分别 $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )；786-O细胞在48 h表现出明显差异( $P<0.001$ )。克隆形成实验表明ApoM过表达后，3株细胞克隆形成能力明显减弱(分别 $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.01$ )。细胞划痕实验证实ACHN和769-P过表达组细胞在12 h时出现明显差异(分别 $P<0.05$ ,  $P<0.001$ )；786-O细胞在24 h时迁移能力明显受抑( $P<0.01$ )。细胞侵袭实验发现3株细胞过表达ApoM后侵袭能力下降(分别 $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.01$ )。结论：ApoM过表达后，肾癌细胞增殖、迁移和侵袭能力显著减弱。

**[关键词]** 载脂蛋白M；肾透明细胞癌；增殖；迁移；侵袭

## Inhibiting effect of apolipoprotein M on proliferation, migration and invasion of renal carcinoma cells

ZHANG Yibo, YAO Shuang, CHENG Gangli, YU Miaomei, WEI Jiang, LUO Guanghua, ZHENG Lu

(Clinical Medical Research Center, Third Affiliated Hospital of Soochow University, Changzhou Jiangsu 213003, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the effect of apolipoprotein M (ApoM) on the proliferation, migration, and invasion of renal clear cell carcinoma cell lines (ACHN, 769-P, and 786-O). **Methods:** To establish ApoM overexpression (ApoM-OE) cell models, lentivirus carrying human ApoM gene and negative control (NC) lentivirus were used to infect renal clear cell carcinoma cell lines respectively. CCK-8 assay and colony formation assay were employed to evaluate the proliferation capacity of renal cancer cells. Wound healing assay was used to detect the migration capacity of tumor cells and transwell assay was applied to examine the invasion ability. **Results:** The proliferation capacity of ApoM-OE groups was significantly reduced at 72 h in ACHN and 769-P cells ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ , respectively). The difference in 786-O cell arises at 48 h ( $P<0.001$ ). The colony formation assay indicated that the capacity of colony formation was significantly reduced in 3 renal carcinoma cell lines ( $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.01$ , respectively). Wound healing assay showed that the migration of ApoM-OE groups in ACHN and

769-P was restrained at 12 h ( $P<0.05$ ,  $P<0.001$ , respectively); the migration of 786-O ApoM-OE group was suppressed at 24 h ( $P<0.01$ ). Transwell assay found that the invasion of renal carcinoma cells was inhibited due to ApoM overexpression ( $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.01$ , respectively). **Conclusion:** ApoM significantly inhibits the proliferation, migration, and invasion capacity of renal carcinoma cells.

**Keywords** apolipoprotein M; clear cell renal carcinoma; proliferation; migration; invasion

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是肾癌最常见的一种组织亚型。其中约80%的患者组织分型为肾透明细胞癌(clear cell renal carcinoma, ccRCC)<sup>[1]</sup>。肾癌的发病机制较为复杂，其中已知的突变基因有Von Hippel-Lindau(VHL)基因和缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)，突变率高达82.4%<sup>[2]</sup>。目前为止，外科手术切除仍然是肾癌最好的治疗手段，但肾癌发病隐匿，约30%的患者在诊断时已经发生转移，因此丧失手术机会<sup>[3]</sup>。肾癌对放射和化学治疗有一定耐受性，导致转移性肾癌的治疗十分困难<sup>[4]</sup>。目前一线的靶向抗肿瘤药物也仅仅能延长6~15个月的生存期<sup>[5]</sup>。因此，寻找新的肾癌治疗靶标意义重大。

载脂蛋白M(apolipoprotein M, ApoM)定位于人主要组织相容性复合体III区6号染色体的p21.31区，分子质量为21 kD<sup>[6]</sup>。作为高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)的重要组成部分，ApoM在糖尿病、冠心病等代谢疾病中扮演重要角色<sup>[7]</sup>。研究<sup>[8-9]</sup>表明：ApoM作为1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)的载体，可以通过抑制肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )表达从而抑制炎症反应。ApoM在一些肿瘤的发生发展中起重要的生物学作用，如结肠癌患者中肿瘤组织ApoM表达显著低于正常组织<sup>[10]</sup>。在肝癌细胞中，ApoM通过维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)信号通路抑制肝癌细胞的增殖和侵袭<sup>[11]</sup>。肝癌患者的血浆ApoM水平低于正常人，这可能是由于肝细胞功能紊乱合成ApoM蛋白受阻<sup>[12]</sup>。最近研究<sup>[13]</sup>发现：ApoM是has-miR-573的潜在靶点，可通过调节Bcl2A1(B-cell lymphoma 2-related protein A1, Bcl2A1)基因的表达促进细胞凋亡，从而抑制肿瘤增殖<sup>[14]</sup>。同时ApoM也受长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)调控，如HCG11(lncRNA HLA complex group 11)通过上调ApoM基因表达降低miR-4469水平，抑制喉癌细胞的增殖。

ApoM可能通过各种途径抑制肿瘤的发生发展，而我们的前期研究<sup>[15]</sup>发现其在肾组织中表达较高，因此本研究拟探讨ApoM在肾癌中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

肾癌786-O、ACHN和769-P细胞购自中科院典型培养物保藏委员会细胞库。RPMI 1640培养基、DMEM高糖培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、0.25%胰蛋白酶和青霉素-链霉素购自美国Gibco公司。CCK-8细胞增殖试剂盒购自日本同仁化学研究所。细胞培养板培养皿、Transwell小室等购自美国康宁公司。Transwell所用基质胶购自美国BD公司。蛋白定量和细胞总蛋白提取试剂盒购自上海贝博生物有限公司。细胞RNA提取试剂盒及蛋白质印迹凝胶配制试剂等购自碧云天生物科技有限公司。PCR所用引物探针由上海生物生工有限公司合成。蛋白质印迹法所用内参Tubulin抗体(货号：66031-1-Ig)和羊抗鼠二抗(货号：SA00001-1)购自武汉三鹰生物技术有限公司，人ApoM抗体购自美国Genetex公司(货号：GTX83083)。

### 1.2 GEPIA 公共数据在线分析

使用GEPIA数据库(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA; <http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>)分析ApoM在肾癌中的表达水平及其与肾癌预后的相关性。分析差异表达筛选条件：1)基因为ApoM；2)|log<sub>2</sub>FC| Cutoff=1；3) P value Cutoff=0.01；4)数据选择KIRC(肾透明细胞癌)；5)对数标尺选择Yes；6)Jitter Size=0.4；7)匹配TCGA正常肾组织ApoM表达水平。

生存分析筛选条件：1)Methods选择总生存期；2)Group cutoff选择中位数；3)数据选择KIRC(肾透明细胞癌)；4)危险比选择Yes；5)Axis Units选择Months。以生存时间(月)为横坐标、生存率为纵坐标绘制生存曲线。分析TCGA数据库中523例肿瘤组织与72例正常肾组织ApoM的表达水平及其与预后的相关性。

### 1.3 ApoM 过表达肾癌细胞模型的建立

分别将肾癌细胞(ACHN、769-P和786-O)接种在10 cm的培养皿中，每株细胞分为ApoM过表

达组(ApoM-OE组)和阴性对照组(NC组)。根据其生长速率, 3株细胞在培养皿中接种数量分别为 $1\times10^6$ 、 $7\times10^5$ 和 $3\times10^5$ 个。按照感染复数(MOI)=10的滴度加入稀释好的包含ApoM片段的病毒和对照组病毒, 并在每个培养皿加入35 μL polybrene助染剂。感染72 h后观察荧光(病毒携带GFP绿色荧光), 待转染效率达到80%后将细胞消化, 铺于6孔板中, 提取RNA和蛋白用于下游实验。

#### 1.4 RNA提取和real-time PCR

RNA提取及反转录操作步骤参照RNA提取试剂盒以及反转录试剂盒说明书进行。RNA反转录成cDNA后进行实时定量PCR(real-time quantitative PCR, real-time PCR)分析。扩增程序: 95 °C 3 min、95 °C 5 s、60 °C 15 s, 共40个循环, 在60 °C收集荧光数据。扩增体系为去离子水17 μL, MgCl<sub>2</sub> 2.5 μL, dNTP 0.5 μL, 反应缓冲液2.5 μL, Taq酶0.25 μL, 前后引物和探针各0.04 μL。采用 $2^{-\Delta t}$ 方法计算mRNA的相对表达量<sup>[16]</sup>, 引物探针序列见表1。

#### 1.5 蛋白质印迹法

15 μg蛋白样本加入5×上样缓冲液混匀, 在100 °C条件下变性15 min, 冰上放置3 min。配制12%的十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE), 处理后样本在恒压(120V)条件下电泳100 min。在4 °C环境下, 以220 mA恒定电流将蛋白转移至PVDF膜上, 转膜时间140 min。PVDF膜置于5%脱脂牛奶中室温封闭2 h。以1:2 000浓度稀释一抗, 在4 °C条件下孵育过夜。最后用PBST洗膜, 洗涤3次, 每次10 min, 并在室温条件下孵育二抗1 h, 随后进行ECL发光检测。

#### 1.6 细胞增殖实验

分别将3株肾癌细胞(包括ApoM-OE组和NC组)以 $7\times10^4$ 、 $3\times10^4$ 、 $1\times10^4$ 个/mL的密度接种于96孔

板, 分组6个复孔。接种细胞4 h后, 每孔加入10 μL CCK-8试剂并在37 °C培养箱中温育1.5 h, 利用酶标仪测定450 nm波长处的吸光度值( $OD_{450\text{nm}}$ )。并在随后4 d的同一时间测定吸光度值。

#### 1.7 克隆形成实验

3种肾癌细胞以300个/mL的低密度接种于6孔板中, 尽可能避免单个细胞聚集。摇匀后迅速置于培养箱中, 培养15 d, 每隔3 d换液1次。最后进行结晶紫染色观察细胞克隆形成情况。染色方法: 吸弃培养基, PBS清洗2遍, 每孔加入1 mL 4%多聚甲醛固定细胞15 min。弃去甲醛, PBS清洗2遍。晾干后, 每孔加入1 mL 0.1%结晶紫染色5 min。吸弃结晶紫用PBS充分洗涤、晾干。拍照并统计克隆个数。

#### 1.8 细胞划痕实验

预先在6孔板底部画5条平行线, 之后以 $4\times10^5$ 、 $3\times10^5$ 和 $2\times10^5$ 个/mL的密度将细胞接种在6孔板中。待细胞密度达到80%后用200 μL枪头垂直划3条线。PBS清洗2次, 洗去漂浮细胞, 并在显微镜下拍照(0 h)。分别在第6、12、24 h在同一位置拍照观察细胞伤口愈合情况。

#### 1.9 细胞侵袭实验

基质胶在4 °C融化后, 用无血清的DMEM或RPMI 1640对基质胶进行1:4倍稀释。取若干Transwell小室置于24孔板, 每个小室内加入80 μL稀释过的基质胶, 放入培养箱过夜凝固。基质胶凝固后, 用无血清培养基将3种肾癌细胞ACHN、769-P和786-O细胞的浓度调整为 $2\times10^5$ 、 $2\times10^5$ 和 $1\times10^5$ 个/200 μL。然后在小室内加入200 μL细胞悬液, 下室加入700 μL完全培养基培养48 h。染色方法同前文。每组细胞做6个复孔, 在20×物镜下对每个复孔拍1张照片, 计数取平均值进行统计分析。

**表1 GAPDH和ApoM引物探针序列**

**Table 1 Primer and probe sequences of GAPDH and ApoM**

引物探针名称	基因序列(5'→3')
GAPDH前引物	TCTTGTGCAGTGCCAGCCT
GAPDH后引物	TGAGGTCAATGAAGGGTCG
GAPDH探针	Cy5-AGGTCGGTGTGAACGGATTGGC-BHQ2
ApoM前引物	GCTTTCTCCTCTACAATCGGTAC
ApoM后引物	CGGGCAGGCCCTTGATT
ApoM探针	FAM-ACCTCTTGCTGGACTCAAAGCCTCTTA-BHQ1

## 1.10 统计学处理

应用GraphPad Prism 8.0对实验数据进行统计, 数据资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 两组间比较采用非配对t检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ApoM在肾癌组织和正常组织中的表达差异

肾癌组织中ApoM的表达水平显著低于正常肾组织( $P<0.05$ , 图1)。

### 2.2 ApoM表达水平与肾癌患者预后的关系

生存曲线结果显示: ApoM高表达的患者预后良好, ApoM低表达患者预后较差(log rank  $P=0.0028$ , 图2)。

### 2.3 ApoM过表达肾癌细胞株的建立

利用装载人ApoM基因的病毒和对照组病毒分别感染肾癌细胞株(ACHN、769-P和786-O)72 h后, 提取细胞总RNA和总蛋白, 进行Real-time PCR和蛋白质印迹验证。结果显示: 感染装载ApoM的病毒后, ApoM-OE组细胞中ApoM mRNA和蛋白表达明显升高(分别 $P<0.05$ ,  $P<0.0001$ ,  $P<0.0001$ , 图3)。

### 2.4 ApoM抑制肾癌细胞增殖能力

与NC组相比, 肾癌细胞ACHN、769-P和786-O过表达ApoM后增殖能力显著减弱(分别 $P<0.01$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.0001$ ; 图4, 表2)。

### 2.5 ApoM抑制肾癌细胞集落形成能力。

与NC组相比, 培养15 d后ApoM-OE组细胞所形成克隆数显著下降, 表明ApoM显著抑制了肾癌细胞的克隆形成能力(均 $P<0.01$ ; 图5, 表3)。

### 2.6 ApoM抑制肾癌细胞迁移

通过对每个时间点划痕面积(相对划痕面积% = 对应时间划痕面积/0 h的划痕面积)的统计, ApoM过表达后划痕愈合速度与NC组相比显著降低, 表明ApoM显著抑制了肾癌细胞的迁移能力(分别 $P<0.05$ ,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ; 表4, 图6)。

### 2.7 ApoM抑制肾癌细胞的侵袭

培养48 h后, ACHN、769-P和ACHN过表达组

细胞穿膜数量显著少于NC组, 表明ApoM抑制了3株肾癌细胞的侵袭能力(分别 $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ; 图7, 表5)。

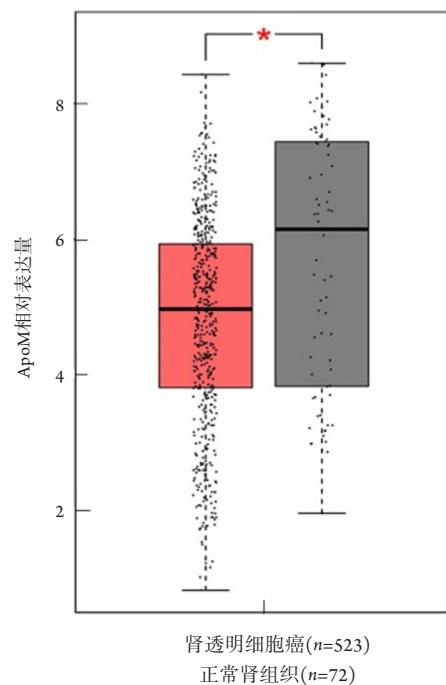


图1 GEPIA数据库中ApoM在肾透明细胞癌组织和正常组织的表达差异(\* $P<0.05$ )

Figure 1 Differential expression of ApoM in clear cell renal carcinoma and normal tissues in GEPIA database (\* $P<0.05$ )

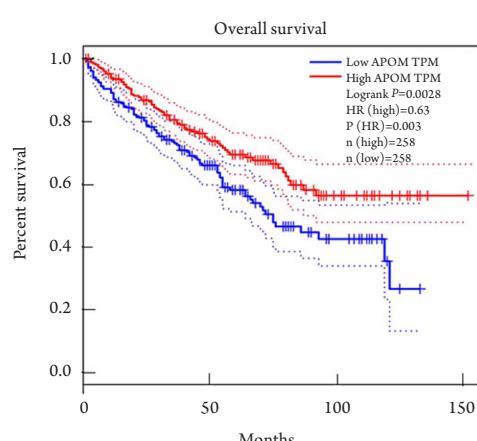


图2 ApoM与肾透明细胞癌患者预后的关系(log rank  $P=0.0028$ )

Figure 2 Relationship between ApoM levels and prognosis of clear cell renal carcinoma patients in GEPIA database (log rank  $P=0.0028$ )

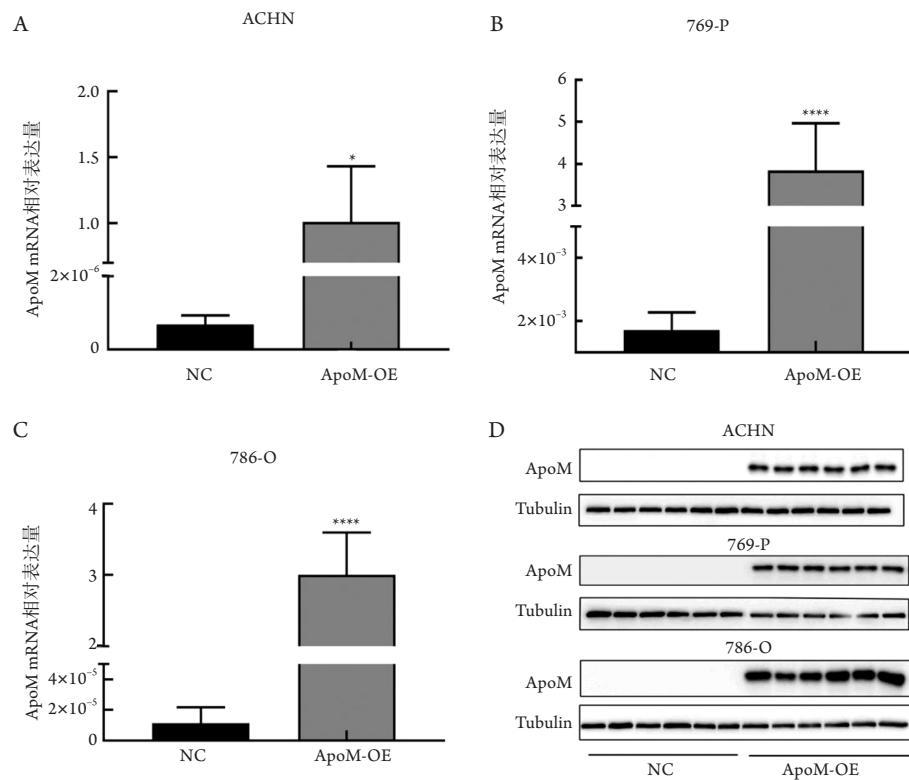


图3 ApoM过表达细胞株的构建及验证

**Figure 3 Establishment and verification of ApoM overexpression in renal carcinoma cell lines**

(A~C)感染72 h后, 3株肾癌细胞ApoM-OE和NC组ApoM mRNA表达水平; (D)感染72 h后, 3株肾癌细胞ApoM-OE和NC组ApoM 蛋白表达水平。\*P<0.05, \*\*\*\*P<0.0001。

(A~C) ApoM mRNA expression of ApoM-OE and NC group of three renal carcinoma cells after infection for 72 h; (D) ApoM protein expression of ApoM-OE and NC group of three renal carcinoma cells after infection for 72 h. \*P<0.05, \*\*\*\*P<0.0001.

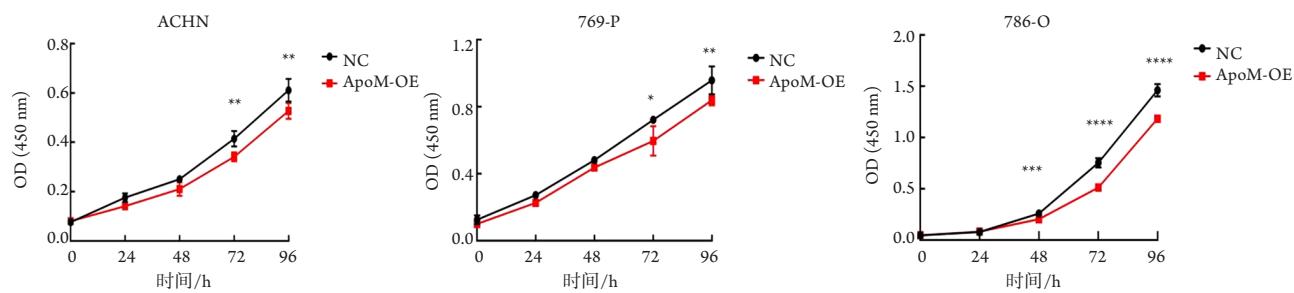


图4 ApoM对肾癌细胞增殖的影响(\*P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01, \*\*\*P&lt;0.001, \*\*\*\*P&lt;0.0001)

**Figure 4 Effect of ApoM on proliferation of renal carcinoma cell lines (\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001, \*\*\*\*P<0.0001)**

表2 肾癌细胞株第96 h吸光度值

**Table 2 OD<sub>450 nm</sub> of renal carcinoma cells at 96 h**

细胞株	ApoM-OE	NC	P
ACHN	0.52 ± 0.03	0.61 ± 0.05	<0.01
769-P	0.84 ± 0.03	0.96 ± 0.08	<0.01
786-O	1.18 ± 0.04	1.49 ± 0.06	<0.0001

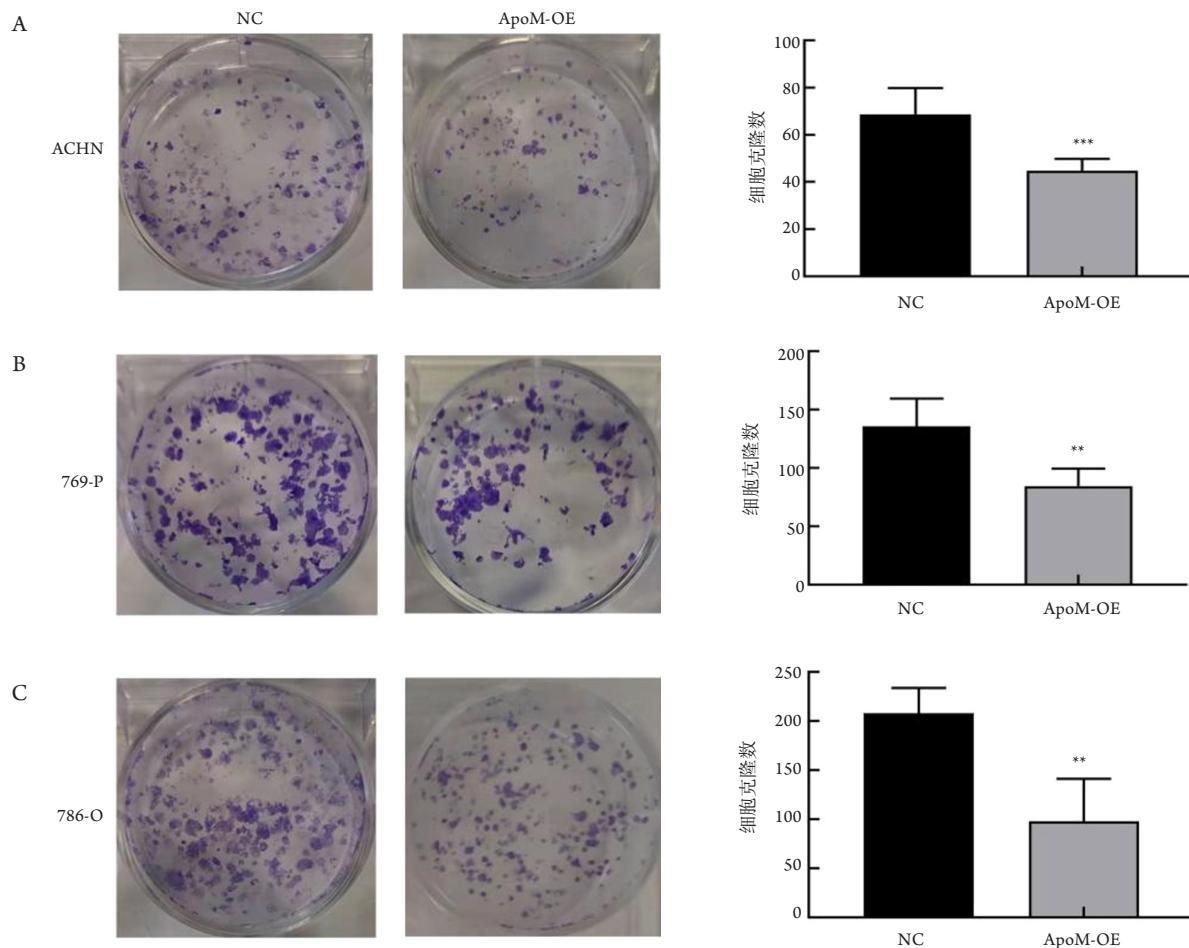


图5 ApoM对细胞克隆形成能力的影响

Figure 5 Effect of ApoM on the capacity of cell colony formation

(A) ACHN、(B) 769-P 和(C) 786-O 细胞结晶紫染色及统计结果。\*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001。

The crystal violet staining and statistical result of (A) ACHN, (B) 769-P and (C) 786-O cells. \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

表3 肾癌细胞株克隆形成数量

Table 3 Colony number of renal cell carcinoma cells

细胞株	ApoM-OE	NC	P
ACHN	44.75 ± 5.12	68.67 ± 11.09	<0.001
769-P	84.44 ± 15.04	135.62 ± 23.77	<0.01
786-O	98.43 ± 43.36	208.01 ± 25.71	<0.01

表4 3株肾癌细胞的相对划痕面积

Table 4 Relative wound area of three renal carcinoma cells

细胞株	ApoM-OE/%	NC/%	P
ACHN	61.1 ± 16.0	50.6 ± 5.9	<0.05
769-P	86.4 ± 6.5	67.4 ± 7.1	<0.05
786-O	83.1 ± 5.4	67.0 ± 8.2	<0.01

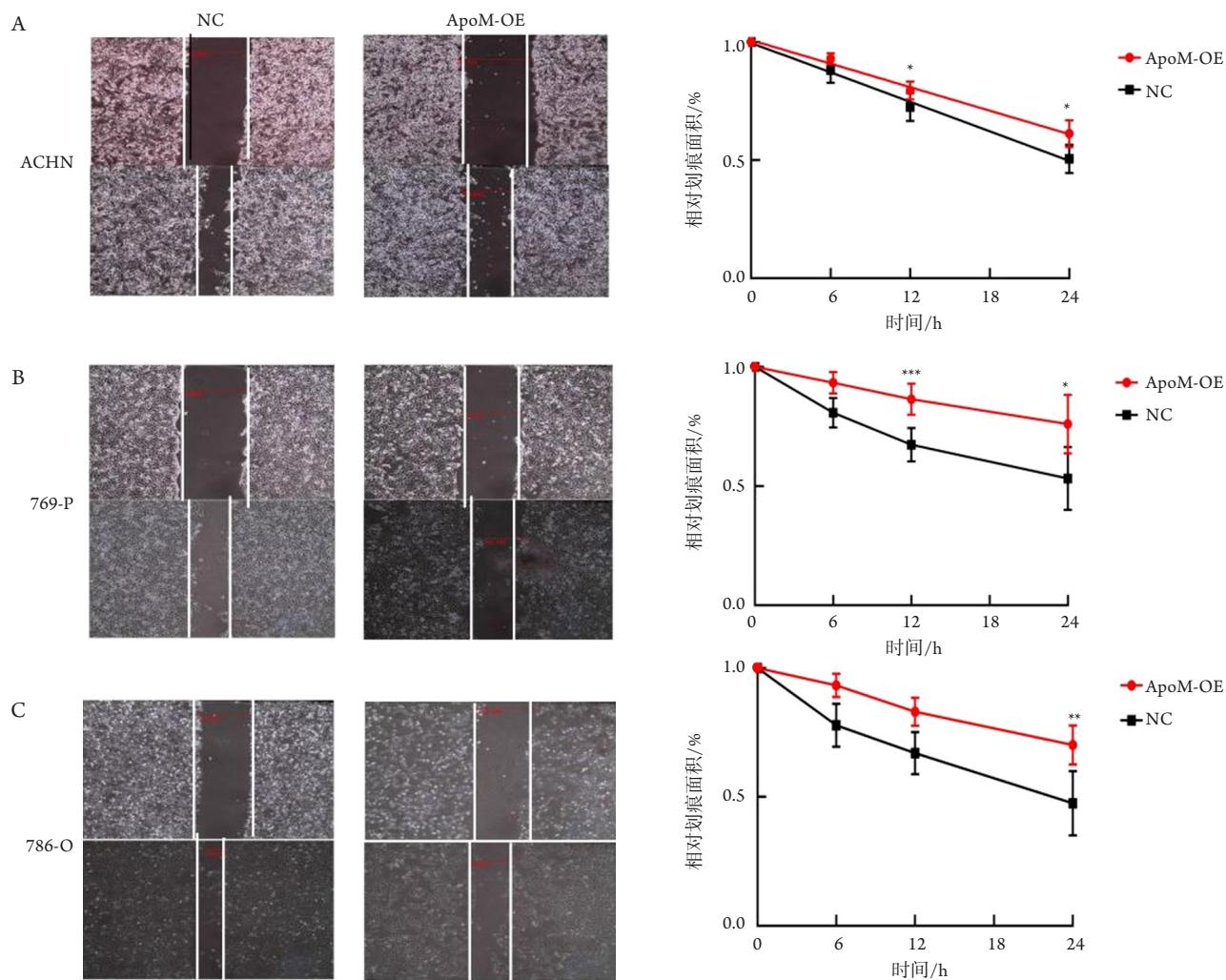
图6 ApoM对肾癌细胞迁移的影响( $\times 200$ )Figure 6 Effect of ApoM on migration capacity of renal carcinoma cells ( $\times 200$ )(A-C)3株肾癌细胞ApoM-OE和NC组划痕实验的结果。 $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ,  $***P<0.001$ 。(A-C) Result of wound healing assay between ApoM-OE and NC group in three renal carcinoma cells.  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ,  $***P<0.001$ .

表5 肾癌细胞株侵袭细胞数量

Table 5 Invasion cell number of renal carcinoma cells

细胞株	ApoM-OE	NC	P
ACHN	$246.4 \pm 30.6$	$601.6 \pm 30.5$	<0.001
769-P	$186.3 \pm 15.1$	$409.3 \pm 19.1$	<0.001
786-O	$302.3 \pm 21.4$	$464.3 \pm 29.9$	<0.01

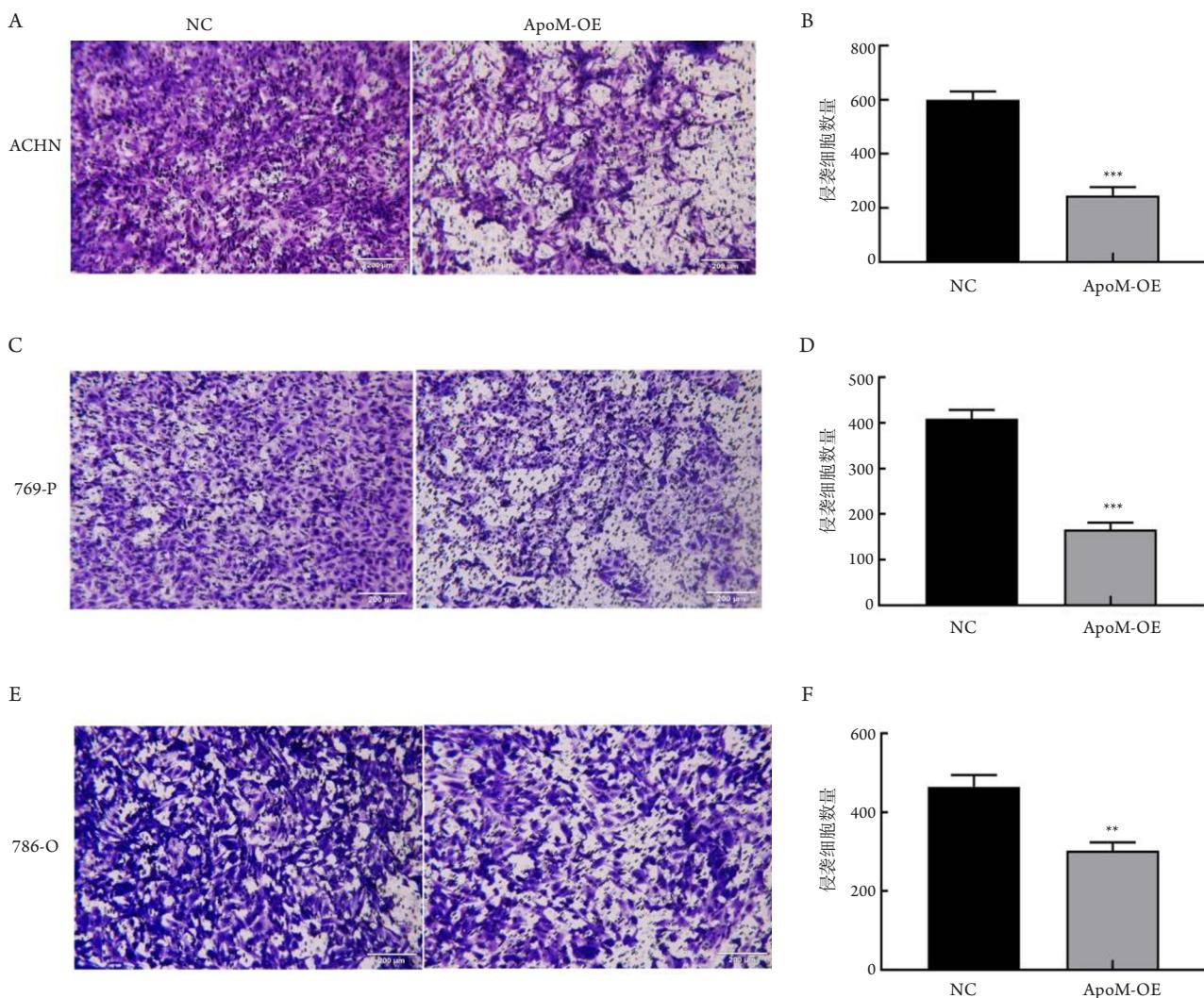


图7 ApoM对肾癌细胞侵袭的影响

Figure 7 Effect of ApoM on invasion of renal carcinoma cells

(A, C, E)3株细胞ApoM-OE和NC组结晶紫染色结果( $\times 200$ )；(B、D、F)3株细胞穿过小室计数统计结果。 $**P<0.01$ ,  $***P<0.001$ 。

(A, C, E) Crystal violet staining of ApoM-OE and NC group ( $\times 200$ )；(B, D, F) Number of invasion cells on the transwell membrane of ApoM-OE and NC group in three renal carcinoma cells.  $**P<0.01$ ,  $***P<0.001$ .

### 3 讨论

作为载脂蛋白家族的新成员，ApoM与肿瘤的关系逐渐得到证实。在肝癌和肠癌组织中，肿瘤组织的ApoM表达显著低于正常组织<sup>[10,12]</sup>。在肝癌细胞中过表达ApoM基因后，肿瘤细胞增殖受抑制而凋亡过程增强<sup>[14]</sup>；在肝癌细胞中敲低ApoM基因后，癌细胞增殖侵袭能力显著加强<sup>[11]</sup>。虽然ApoM在肾脏中表达，而且ApoM可以减轻肾纤维化程度，修复肾损伤<sup>[17]</sup>，但ApoM与肾癌发生发展的关系尚未被研究证实。本文首先研究了ApoM

对肾癌细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。通过GEPIA在线数据库分析，我们发现ApoM在肾透明细胞癌组织中低表达( $P<0.05$ )，而且ApoM表达水平与患者预后呈正相关。这与ApoM在肝癌中的研究<sup>[18]</sup>结果相似。从这一点出发，本实验选取了3株肾透明细胞癌细胞株(ACHN、769-P和786-O)，并建立ApoM过表达模型，使用CCK-8增殖实验和克隆形成实验研究ApoM对细胞增殖能力的影响，结果表明ApoM显著抑制了肾癌细胞的增殖能力。ApoM作为一种血清分泌蛋白<sup>[19]</sup>，细胞培养时胎牛血清中的ApoM可能会影响实验结果，因此我们将

含10% FBS的完全培养基更换为含5%牛血清白蛋白(bull serum albumin, BSA)的培养基以消除其影响。划痕实验表明ApoM显著抑制了肾癌细胞迁移能力, 在细胞贴壁后, 我们同样将含胎牛血清的培养基更换为含BSA的培养基。在侵袭实验中, 我们发现ApoM过表达显著抑制了肾癌细胞的侵袭能力。而肾癌侵袭性和肾癌患者的预后紧密相关, 如GEPPIA数据库中生存分析显示ApoM表达量较高的肾癌患者预后较为良好。其原因可能是高水平ApoM对肾癌增殖、迁移和侵袭具有更强的抑制能力。我们通过体外细胞实验发现ApoM过表达可以影响肾癌细胞的发展, 但肿瘤组织是否会调控ApoM的分泌还需要更多的研究。

作为具有高度转移特性的肿瘤, 肾癌细胞常通过血道转移累及其他器官。肾癌细胞表面表达丰富的黏附分子, 如细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1), 二者表达与肾癌恶性程度呈正相关, 其表达上调提示肿瘤组织微血管密度增加, 肿瘤有迁移、侵袭趋势<sup>[20]</sup>。而转移性肾癌的治疗方案十分局限, 目前一线化疗药物常并发肾动脉高压等不良反应<sup>[21]</sup>。因此寻找治疗肾癌的新靶点已成为迫切需要。研究<sup>[22]</sup>表明: ApoM通过增加I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达抑制NF- $\kappa$ B(nuclear transcription factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)活性, 使下游的黏附分子ICAM-1和VCAM-1表达下调。因此推测ApoM可能通过下调NF- $\kappa$ B活性抑制下游黏附分子表达, 从而抑制肾癌细胞的转移, 这也可能是ApoM高水平患者预后良好的原因。ApoM还可以抑制p65蛋白表达, 下调BCL2基因水平, 促进肾癌细胞凋亡<sup>[23]</sup>, 同样是ApoM抑制肾癌细胞发展的潜在途径。综上, ApoM显著抑制肾癌细胞的增殖、侵袭和转移能力, 而且ApoM是肾癌患者有利的预后因素, 因此ApoM可以成为临床肾癌治疗的潜在靶点。

## 参考文献

- Zhang ZY, Zhang SL, Chen HL, et al. The up-regulation of NDRG1 by HIF counteracts the cancer-promoting effect of HIF in VHL-deficient clear cell renal cell carcinoma[J]. Cell Prolif, 2020, 53(7): e12853.
- Zheng Z, Wu K, Yao Z, et al. Hyperprogressive disease in patients with advanced renal cell carcinoma: a new pattern of post-treatment cancer behavior[J]. Immunol Res, 2020, 68(4): 204-212.
- Posadas EM, Figlin RA. Systemic therapy in renal cell carcinoma: advancing paradigms[J]. Oncology (Williston Park), 2012, 26(3): 290-301.
- Bergerot CD, Battle D, Philip EJ, et al. Fear of cancer recurrence in patients with localized renal cell carcinoma[J]. JCO Oncol Pract, 2020, 16(11): e1264-e1271.
- Wistuba-Hamprecht K, Gouttefangeas C, Weide B, et al. Immune signatures and survival of patients with metastatic melanoma, renal cancer, and breast cancer[J]. Front Immunol, 2020, 11: 1152.
- Luo G, Xu N. Apolipoprotein M: research progress and clinical perspective[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1276: 85-103.
- Arkenstein BWC, Berbee JFP, Rensen PCN, et al. The apolipoprotein M-sphingosine-1-phosphate axis: biological relevance in lipoprotein metabolism, lipid disorders and atherosclerosis[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(3): 4419-4431.
- Bisgaard LS, Christoffersen C. Apolipoprotein M/sphingosine-1-phosphate: novel effects on lipids, inflammation and kidney biology[J]. Curr Opin Lipidol, 2019, 30(3): 212-217.
- Zhu B, Luo GH, Feng YH, et al. Apolipoprotein M protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury via sphingosine-1-phosphate signaling[J]. Inflammation, 2018, 41(2): 643-653.
- Luo G, Zhang X, Mu Q, et al. Expression and localization of apolipoprotein M in human colorectal tissues[J]. Lipids Health Dis, 2010, 9: 7.
- Yu MM, Pan LL, Sang C, et al. Apolipoprotein M could inhibit growth and metastasis of SMMC7721 cells via vitamin D receptor signaling[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 3691-3701.
- Jiang J, Wu C, Luo G, et al. Expression of apolipoprotein M in human hepatocellular carcinoma tissues[J]. Acta Histochem, 2011, 113(1): 53-57.
- Xue HX, Li HF, Wang T, et al. LncRNA HCG11 suppresses laryngeal carcinoma cells progression via sponging miR-4469/APOM axis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(6): 3174-3182.
- Hu YW, Chen ZP, Hu XM, et al. The miR-573/apoM/Bcl2A1-dependent signal transduction pathway is essential for hepatocyte apoptosis and hepatocarcinogenesis[J]. Apoptosis, 2015, 20(10): 1321-1337.
- Zhang XY, Dong X, Zheng L, et al. Specific tissue expression and cellular localization of human apolipoprotein M as determined by in situ hybridization[J]. Acta Histochem, 2003, 105(1): 67-72.
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method[J]. Nat Protoc, 2008, 3(6): 1101-1108.
- Ding BS, Yang D, Swendeman SL, et al. Aging suppresses sphingosine-1-phosphate chaperone ApoM in circulation resulting in maladaptive organ repair[J]. Dev Cell, 2020, 53(6): 677-690.e674.
- Yu M, Pan L, Sang C, et al. Apolipoprotein M could inhibit growth and metastasis of SMMC7721 cells via vitamin D receptor signaling[J].

- Cancer Manag Res, 2019, 11: 3691-3701.
19. Yatomi Y, Kurano M, Ikeda H, et al. Lysophospholipids in laboratory medicine[J]. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci, 2018, 94(10): 373-389.
20. Hemmerlein B, Scherbening J, Kugler A, et al. Expression of VCAM-1, ICAM-1, E- and P-selectin and tumour-associated macrophages in renal cell carcinoma[J]. Histopathology, 2000, 37(1): 78-83.
21. Zhang C, He H, Hu X, et al. Development and validation of a metastasis-associated prognostic signature based on single-cell RNA-seq in clear cell renal cell carcinoma[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(22): 10183-10202.
22. Gao JJ, Hu YW, Wang YC, et al. ApoM suppresses TNF- $\alpha$ -induced expression of ICAM-1 and VCAM-1 through inhibiting the activity of NF- $\kappa$ B[J]. DNA Cell Biol, 2015, 34(8): 550-556.
23. Kim EA, Sung EG, Song IH, et al. Neferine-induced apoptosis is dependent on the suppression of Bcl-2 expression via downregulation of p65 in renal cancer cells[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2019, 51(7): 734-742.

**本文引用:** 张艺博, 姚霜, 程港丽, 喻妙梅, 魏江, 罗光华, 郑璐. 载脂蛋白M对肾癌细胞增殖、迁移与侵袭的抑制作用[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(6): 1227-1236. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.001

**Cite this article as:** ZHANG Yibo, YAO Shuang, CHENG Gangli, YU Miaomei, WEI Jiang, LUO Guanghua, ZHENG Lu. Inhibiting effect of apolipoprotein M on proliferation, migration and invasion of renal carcinoma cells[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2021, 41(6): 1227-1236. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.001