

载脂蛋白 D 在常染色体显性多囊肾病中的表达及对囊肿衬里上皮细胞增殖的影响

胡文娟, 刘 晔, 刘冬梅, 高 翔, 李宏栋, 梅长林*

第二军医大学长征医院肾内科, 上海 200003

[摘要] **目的** 探讨载脂蛋白 D (apolipoprotein D, ApoD) 在常染色体显性多囊肾病 (autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) 发病中的作用。**方法** 采用免疫组织化学及蛋白质印迹方法分析 ApoD 在 ADPKD 患者肾脏囊肿组织中的表达; 蛋白质印迹法和实时荧光定量 PCR 法分别检测 Han;SPRD 大鼠肾组织 ApoD 蛋白和基因表达的变化。应用 MTT 法检测人重组 ApoD 蛋白对 ADPKD 囊肿衬里上皮细胞 (WT9-12) 增殖的影响; 流式细胞术检测经人重组 ApoD 蛋白作用后 WT9-12 细胞的凋亡情况及细胞周期改变。**结果** ADPKD 患者及 Han;SPRD 杂合型大鼠 (cy/+) 肾组织中 ApoD 表达量分别低于正常人及 Han;SPRD 正常大鼠 (+/+) 肾组织 ($P<0.05$, $P<0.01$)。8、12、16、24 周龄 Han;SPRD 杂合型大鼠 (cy/+) 肾脏中 ApoD 基因表达量均低于同周龄 Han;SPRD 正常大鼠 (+/+) ($P<0.05$)。人重组 ApoD 蛋白以 100、200、400 ng/ml 作用于 WT9-12 细胞, 作用 48 h 细胞增殖抑制率分别为 8.21%、7.59%、8.07% ($P<0.05$), 作用 72 h 细胞增殖抑制率分别为 8.62%、6.43%、9.42% ($P<0.05$)。人重组表达 ApoD 蛋白以 400 ng/ml 浓度刺激细胞 72 h, 对细胞凋亡无明显影响, 但可使 G₁ 期细胞增加 8.26%, S 期细胞减少 8.09% ($P<0.05$)。**结论** ApoD 蛋白可能通过调节细胞周期减弱 WT9-12 细胞增殖, 其表达减少可能在 ADPKD 的发病过程中具有一定作用。

[关键词] 载脂蛋白 D; 常染色体显性多囊肾; 细胞增殖; 细胞周期

[中图分类号] R 692.12 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)05-0465-05

Expression of apolipoprotein D in autosomal dominant polycystic kidney disease and its influence on proliferation of cyst-lining epithelial cells

HU Wen-juan, LIU Ye, LIU Dong-mei, GAO Xiang, LI Hong-dong, MEI Chang-lin*

Department of Nephrology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the role of apolipoprotein D (ApoD) in the pathogenesis of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). **Methods** The expression of ApoD protein in renal cystic tissues of ADPKD patients was examined by immunofluorescence and Western blotting analysis. Western blotting analysis and real-time PCR were used to detect the expression of ApoD protein and mRNA in the renal tissues of Han;SPRD rats. The cystic lining immortalized epithelial cells (WT9-12 cells) of ADPKD were stimulated with human recombinant ApoD protein and their proliferation was examined by MTT assay; flow cytometry was used to determine the cell apoptosis and cell cycle distribution. **Results** Immunohistochemistry and Western blotting analysis showed that ApoD expression was significantly lower in the renal tissues of ADPKD patients than that in healthy controls, and that in the Han;SPRD cy/+ rats was significantly lower than that in the Han;SPRD +/+ rats ($P<0.05$, $P<0.01$). ApoD mRNA expression in the kidneys of Han;SPRD cy/+ rats of 8, 12, 16, and 24 weeks old was significantly lower than that of Han;SPRD +/+ rats of same ages ($P<0.05$). Recombinant ApoD protein at 100, 200, and 400 ng/ml inhibited the proliferation of WT9-12 cells by 8.21%, 7.59% and 8.07% after 48 h stimulation ($P<0.05$), and by 8.62%, 6.43% and 9.42% after 72 h stimulation, respectively ($P<0.05$). Treatment with 400 ng/ml human recombinant ApoD protein for 72 h increased G₁ phase WT9-12 cells by 8.26% and decreased S phase cells by 8.09% ($P<0.05$), but it had no significant effect on cell apoptosis. **Conclusion** ApoD may inhibit WT9-12 cell proliferation by regulating cell cycle, and decreased ApoD expression may participate in the pathogenesis of ADPKD.

[Key words] apolipoprotein D; autosomal dominant polycystic kidney; cell proliferation; cell cycle

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(5):465-469]

[收稿日期] 2012-02-17 **[接受日期]** 2012-04-02

[作者简介] 胡文娟, 博士生. E-mail: junehwenjuans@sina.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-63521416, E-mail: chlmei1954@126.com

常染色体显性多囊肾病 (autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) 是一种常见的遗传性肾脏疾病,其发病率为 1/1 000~1/400^[1],该病的分子发病机制主要有“二次打击”和“纤毛致病”两种学说^[2],但其根本发病机制目前尚未明了。

载脂蛋白 D (apolipoprotein D, ApoD) 是一种相对分子质量为 29 000 的糖蛋白,主要存在于人类及其他动物的血液及肝、脾、肾等多种组织,在体内脂类代谢中参与构成高密度脂蛋白和极高密度脂蛋白,逆向转运胆固醇。ApoD 配基的多样性使之具有多种不同功能,其具体生理作用尚不十分清楚。

本实验室前期在 ADPKD 患者尿糖蛋白组学的研究中发现,ADPKD 患者尿液中 ApoD 蛋白含量明显低于正常人 (资料未发表)。研究表明,在乳腺肿瘤、前列腺癌、皮肤恶性黑素瘤等肿瘤性疾病中, ApoD 表达出现异常^[3];细胞在应激状态下,也存在 ApoD 表达的变化^[4]。本研究观察了 ADPKD 患者及 ADPKD 动物模型 Han:SPRD 大鼠肾组织中 ApoD 表达的变化及人重组 ApoD 蛋白对 ADPKD 囊肿衬里上皮细胞增殖和凋亡的影响,初步探讨 ApoD 表达改变在 ADPKD 发病中的意义。

1 材料和方法

1.1 实验对象 5 例 ADPKD 肾组织标本取自我院泌尿外科因囊肿出血或压迫症状行单侧肾脏切除术的 ADPKD 患者;5 例正常成人肾组织标本取自我院泌尿外科行肾癌切除术的患者,取其癌旁正常肾组织。选取经基因鉴定为 SPRD 杂合子和 SPRD 正常的雄性 Han:SPRD 大鼠^[5]各 25 只,每组中 4、8、12、16、24 周龄大鼠各 5 只。Han:SPRD 大鼠由美国梅奥诊所 (Mayo Clinic) 的 Vincent E. Torres 教授及 Qi Qian 博士馈赠,我科在第二军医大学 SPF 级实验动物中心自行繁育保种。ADPKD 囊肿衬里上皮细胞系 (WT9-12)^[6] 为美国哈佛大学医学院周晶教授馈赠。

1.2 主要试剂和仪器 鼠抗 ApoD 单克隆抗体 (美国 Abcam 公司)、S/P 超敏法羊抗鼠/兔试剂盒 (福建迈新生物技术开发有限公司)。TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司), SYBR *Premix Ex Taq* (日本 TaKaRa 公司),实时荧光定量 PCR 引物 (美国 Invitrogen 公司),DMEM/F12 (1:1) 培养液和胎牛血清 (美国 Gibco 公司),人重组 ApoD 蛋白 (以色列 Prospec 公司,DMEM/F12 培养液稀释至实验浓度),碘化丙啶 (PI,美国 Gibco 公司),Annexin/FITC V 标

记试剂盒 (深圳晶美生物工程有限公司),流式细胞仪 (Coulter Epics XL,美国 Beckman 公司)。

1.3 免疫组织化学法检测 ADPKD 患者肾组织中 ApoD 的表达 人肾组织于 100 ml/L 中性甲醛液固定 24 h 后常规脱水透明,石蜡包埋,连续切片,片厚 2 μm 。切片脱蜡至水,枸橼酸钠微波修复 15 min, PBS 冲洗 3 次,30 ml/L 过氧化氢 (A 液) 孵育 10 min, PBS 洗 3 次,正常山羊血清 (B 液) 室温封闭 20 min, 1:50 滴加一抗 (鼠抗 ApoD 单克隆抗体), 4℃ 过夜, PBS 洗 3 次,滴加偶联辣根过氧化物酶的山羊抗小鼠 IgG (C 液), 37℃ 孵育 10 min, PBS 洗 3 次,滴加链霉素抗生物素-过氧化物酶 (D 液), 37℃ 孵育 10 min, PBS 洗 3 次, DAB 溶液显色,苏木精复染、脱水、透明、封片。PBS 代替一抗作为阴性对照。结果分析:利用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统进行半定量分析,每张切片随机采集 5 个高倍镜 (400 倍) 视野,以胞质内棕黄色颗粒为阳性,测定切片累积光密度 (integrated optical density, IOD), 计算平均光密度值 (平均光密度值 = IOD / 同一视野总面积)。

1.4 蛋白质印迹法检测 ADPKD 患者和 Han:SPRD 大鼠肾组织中 ApoD 蛋白的表达 取在液氮中短暂冻存的肾组织标本,加入放射免疫沉淀试验 (RIPA) 裂解液,置冰上充分匀浆, 4℃ 离心取上清,用 BCA 蛋白质分析试剂盒测定蛋白浓度。取 50 μg 蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 常规方法转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后分别加入兔抗 ApoD 多克隆抗体 (1:1 000) 或鼠抗 GAPDH 单克隆抗体 (1:2 000) 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 或羊抗鼠 IgG (1:5 000) 作为二抗于室温孵育 1 h, ECL 暗室显影成像。采用图像分析软件 ImageQuantTL 对特异性条带进行灰度扫描,以 ApoD/GAPDH 灰度值作为相对表达量。

1.5 实时荧光定量 PCR 方法检测 Han:SPRD 大鼠肾组织中 ApoD mRNA 的表达 取约 100 mg 在液氮中短暂冻存的 Han:SPRD 大鼠肾组织,加入 1 ml TRIzol 提取总 RNA,电泳鉴定 RNA 完整性。取总 RNA 1 μg 反转录合成 cDNA,反应总体积 10 μl 。采用美国 Applied Biosystems 公司的 7700 型实时荧光定量 PCR 仪进行实时定量 PCR。引物序列: ApoD 正义链 5'-CTG ATG GAG AAC GGA AAC AT-3', 反义链 5'-AGG AAT ACA CGA GGG CAT AG-3'; GAPDH 正义链 5'-AAG GTG GTG AAG CAG GCG GC-3', 反义链 5'-GAG CAA TGC CAG CCC CAG CA-3'。PCR 反应体系总体积为 25 μl : 2×*Premix Ex Taq* 12.5 μl , 上、下游引物各 1 μl ,

cDNA 1 μ l, ddH₂O 9.5 μ l。扩增反应条件为:95℃ 10 min;95℃ 10 s,60℃ 30 s,72℃ 20 s,共40个循环。结果以荧光值曲线和Ct值计算目的基因和内参照GAPDH的比值,以平衡样本中含量的差异。

1.6 人重组 ApoD 蛋白对 WT9-12 细胞增殖和凋亡的影响

1.6.1 细胞培养 WT9-12 细胞置于含10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素的DMEM/F12培养液中,37℃、5% CO₂培养箱内培养,2~3 d 传代1次,细胞呈贴壁生长。

1.6.2 细胞增殖检测 WT9-12 细胞以4 000个/孔的密度接种于96孔板,贴壁后加入无血清的DMEM/F12培养液同步化24 h后,人重组 ApoD 蛋白分别以50、100、200、400 ng/ml 浓度作用 WT9-12 细胞,继续培养24、48和72 h,作用结束前每孔加入MTT溶液(5 g/L)10 μ l,放置孵箱内4 h后弃上清,加入100 μ l的二甲基亚砜(DMSO),震荡,用酶标仪检测490 nm处的光密度(D)值,每个实验组均设4复孔同时进行实验。细胞增殖率(%) = $[1 - (D_{\text{对照组}} - D_{\text{实验组}}) / D_{\text{对照组}}] \times 100\%$ 。

1.6.3 细胞凋亡检测 不同浓度人重组 ApoD 蛋白作用 WT9-12 细胞48或72 h后,用胰酶消化,制备单细胞悬液,加入Annexin/FITC V及PI避光染色。用流式细胞仪检测,MCycle 软件分析凋亡指数,实验重复3次。

1.6.4 细胞周期检测 将 WT9-12 细胞(2×10^5 /孔)接种于6孔板中,细胞长至60%~70%融合后,用无血清的DMEM/F12培养液同步化24 h,给予不同浓度的人重组 ApoD 蛋白作用72 h,吸去培养液,用含EDTA的0.25%胰蛋白酶消化后收集细胞,制备单细胞悬液,加入70%预冷乙醇,4℃固定过夜,每管加入PI(50 mg/L)50 μ l 避光染色,流式细胞仪检测,用MultiCycle 软件分析数据。

1.7 统计学处理 采用SPSS 13.0 软件进行分析,所有实验数据均重复3次以上,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较采用方差分析,组间比较采用t检验。检验水平(α)为0.05。

2 结果

2.1 ADPKD 患者和 Han:SPRD 大鼠肾脏组织中 ApoD 蛋白的表达 ApoD 的阳性棕色颗粒主要表达于正常人肾小管上皮细胞胞质中,肾小球中基本无表达,ADPKD 患者肾脏中 ApoD 表达明显降低,少于正常成人肾脏(图1),免疫组织化学图像分析显示正常成人肾脏中 ApoD 的平均光密度值为 $1.39 \pm$

0.17 ,ADPKD 患者为 0.30 ± 0.11 (是正常成人的21.73%),差异有统计学意义($P < 0.01$)。蛋白质印迹分析结果表明,ADPKD 患者与 Han:SPRD 杂合子(Cy/+)大鼠肾组织中 ApoD 表达量明显低于正常对照,分别为正常人和 Han:SPRD 正常大鼠(+/+)肾组织的38.83%和6.63%,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$,图2)。

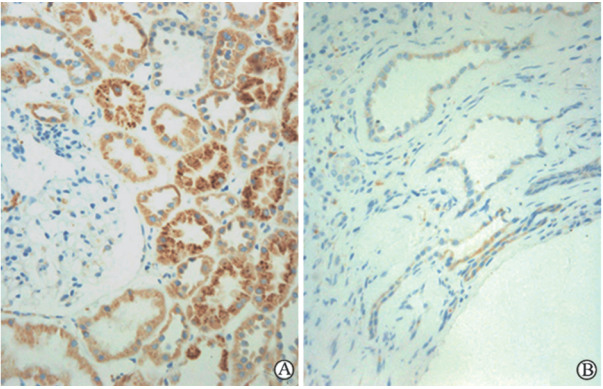


图1 正常成人与 ADPKD 患者
肾组织中 ApoD 蛋白的表达
Fig 1 Immunohistochemistry of apolipoprotein D (ApoD)
protein in kidney tissues of normal control and
ADPKD patients

ADPKD: Autosomal dominant polycystic kidney disease. A: Normal kidney tissue; B: ADPKD kidney tissue. Original magnification: $\times 400$

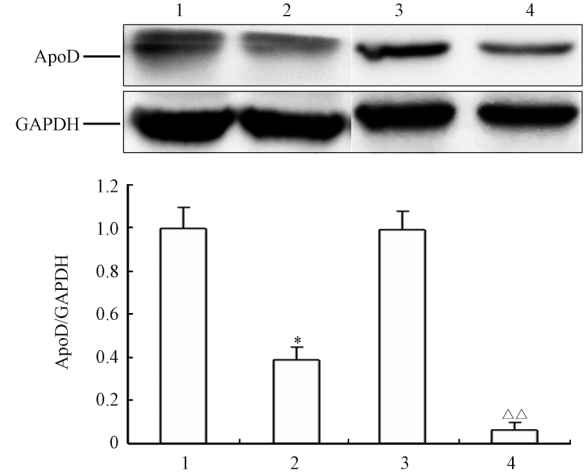


图2 人及 Han:SPRD 大鼠肾组织中
ApoD 蛋白表达量比较
Fig 2 Comparison of apolipoprotein D (ApoD) protein
expression in kidney tissues of human and Han:SPRD rats

ADPKD: Autosomal dominant polycystic kidney disease. 1: Normal kidney tissue; 2: ADPKD kidney tissue; 3: Kidney tissue of Han:SPRD +/+ rats; 4: Kidney tissue of Han:SPRD cy/+ rats. * $P < 0.05$ vs normal kidney tissue; $\triangle\triangle P < 0.01$ vs kidney tissue of Han:SPRD(+/+) rats; $n = 5$, $\bar{x} \pm s$

2.2 不同周龄 Han:SPRD 大鼠肾脏组织中 ApoD

mRNA 的表达 4 周龄 Han:SPRD 杂合子大鼠和正常大鼠肾组织中 ApoD mRNA 表达差异无统计学意义,但大于 8 周龄的 Han:SPRD 杂合子大鼠与同周龄 Han:SPRD 正常大鼠相比,肾组织 ApoD mRNA 表达减少,且减少幅度随周龄增长而增加。8、12、16、24 周龄 Han:SPRD 杂合子大鼠肾组织 ApoD mRNA 含量分别是同周龄 Han:SPRD 正常大鼠的 84.24%、77.19%、62.86% 和 58.49%,差异均有统计学意义($P<0.05$,图 3)。

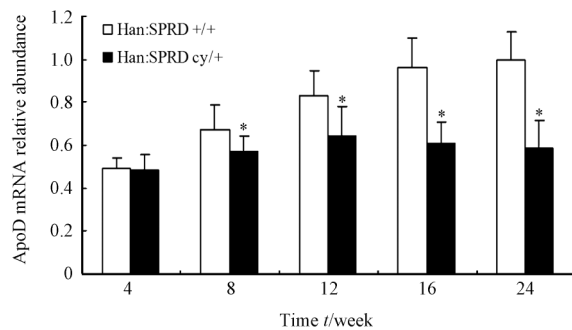


图 3 Han:SPRD 大鼠肾脏组织中 ApoD mRNA 的表达

Fig 3 Expression of apolipoprotein D (ApoD) mRNA level in Han:SPRD rats of different weeks of age

* $P<0.05$ vs age-matched Han:SPRD (+/+) rats; $n=5$, $\bar{x}\pm s$

2.3 人重组 ApoD 蛋白对 WT9-12 细胞增殖的影响 分别以 100、200、400 ng/ml 浓度人重组 ApoD 蛋白作用于 WT9-12 细胞,作用 24 h 时细胞增殖抑制率与对照组比较,差异无统计学意义;作用 48 h 时细胞增殖抑制率分别为 8.21%、7.59%、8.07%,作用 72 h 时细胞增殖抑制率分别为 8.62%、6.43%、9.42%,与对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$,图 4)。50 ng/ml 人重组蛋白 ApoD 对 WT9-12 细胞增殖率无明显影响。

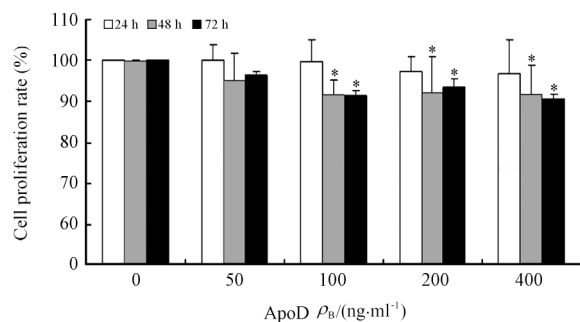


图 4 人重组蛋白 ApoD 对 WT9-12 细胞增殖率的抑制作用

Fig 4 Inhibitory effect of human recombinant apolipoprotein D (ApoD) protein on proliferation of WT9-12 cells

* $P<0.05$ vs 0 ng/ml ApoD protein; $n=3$, $\bar{x}\pm s$

2.4 人重组 ApoD 蛋白对 WT9-12 细胞凋亡及周期的影响 人重组表达 ApoD 蛋白分别以 200、400 ng/ml 浓度作用 WT9-12 细胞 48 h 和 72 h,对 WT9-12 细胞凋亡无明显影响,而对细胞周期有作用。其中,人重组 ApoD 蛋白以 400 ng/ml 浓度刺激细胞 72 h, G_1 期细胞增加 8.26%, S 期细胞减少 8.09%,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$,表 1)。

表 1 人重组 ApoD 蛋白对 WT9-12 细胞的细胞周期改变的影响

Tab 1 Effects of human recombinant apolipoprotein D (ApoD) protein on cell cycle of WT9-12 cells

$n=3$, $\bar{x}\pm s$			
Group	G_0/G_1	S	G_2/M
Control	55.73 ± 1.82	37.21 ± 2.73	9.83 ± 1.91
ApoD			
200 ng · ml ⁻¹	54.34 ± 3.68	38.08 ± 4.09	10.93 ± 4.36
400 ng · ml ⁻¹	$63.99\pm 2.41^*$	$29.12\pm 2.59^*$	9.02 ± 1.87

* $P<0.05$ vs control

3 讨论

多囊肾病(polycystic kidney disease, PKD)是一种单基因遗传性疾病,根据其遗传方式不同分为 ADPKD 和常染色体隐性遗传性多囊肾病(autosomal recessive polycystic kidney disease, ARPKD),其中,ADPKD 占 85% 左右。ADPKD 患者后代患病概率为 50%,给患者心理和经济造成了沉重负担^[1]。现已发现 ADPKD 的致病基因为 PKD1 和 PKD2,分别编码多囊蛋白 1 和多囊蛋白 2。基因突变导致相应的多囊蛋白结构、功能改变,使肾脏形成囊肿并促进其不断增大^[7]。

目前,ADPKD 的发病机制尚未完全明了,治疗方法仍限于对症治疗,尚无治疗本病的药物出现。因此,现有研究主要集中在发现参与促进囊肿形成或抑制囊肿进行性增大的影响因素,寻找有效的治疗方法上^[8-9]。本实验室前期对 ADPKD 患者尿液进行糖蛋白组学分析发现,ADPKD 患者尿液中 ApoD 蛋白含量明显低于正常人,且随着病情进展,降低程度愈加明显(资料未发表)。本实验发现 ApoD 在 ADPKD 患者及动物模型肾脏中表达均明显降低,提示 ApoD 的表达降低在 ADPKD 的发病中起到一定作用,推测给予外源性 ApoD 可能有助于治

疗 ADPKD。

ApoD 是一种糖蛋白,于 1963 年在人类血浆中首次被发现,它能与高密度脂蛋白结合,参与血浆中脂质运输。ApoD 蛋白由一条单一肽链组成,其结构及合成部位均与其他载脂蛋白差别较大,是一类非典型的载脂蛋白,属脂肪促成素基因超家族(lipopocalin superfamily)^[10]。ApoD 分子结构使之具有疏水小分子载体的特性,可结合高密度脂蛋白及各种不同的疏水配体并运输到各组织中,发挥不同的生理作用。目前已发现 ApoD 蛋白在大脑、小脑和脊髓等中枢神经系统中均有高度表达,在肾脏、脾脏、卵巢、睾丸等器官中也有不同程度的表达。由于 ApoD 结合配体的多样性,其不同组织、器官中的作用也不尽相同。在阿尔茨海默病等多种中枢神经系统疾病中,患者血浆及脑脊液中 ApoD 浓度明显增加^[11]。而近年来有研究认为 ApoD 可作为乳腺癌^[12]、前列腺癌^[13]及雄激素不敏感综合征^[14]的激素相关性生物标志物。研究发现,p53 家族成员 p73/p63 上存在 ApoD 基因结合位点,过表达 p73 基因的同时加入人重组 ApoD 蛋白能诱导人骨肉瘤细胞 Saos-2 向成骨细胞分化^[15]。NIH/3T3 细胞在不同的应激状态下 ApoD 表达产生变化,与细胞增殖率呈反比,过表达 ApoD 具有抑制细胞增殖、促进细胞凋亡的作用^[4]。本研究发现,以不同浓度的人重组 ApoD 蛋白作用于 WT9-12 细胞,可对细胞增殖产生不同程度的抑制作用,此作用可能通过影响细胞周期,使细胞停留在 G₀/G₁ 期,抑制其进入 S 期而实现。

综上,本研究结果表明 ApoD 的减少可能在 ADPKD 的发病过程中具有一定作用,给予外源性 ApoD 能够抑制 WT9-12 细胞增殖,这为进一步了解 ADPKD 的发病机制、开发治疗 ADPKD 的药物提供了实验依据。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Torres V E, Harris P C. Autosomal dominant polycystic kidney disease: the last 3 years[J]. *Kidney Int*, 2009, 76: 149-168.
- [2] 梅长林,戴兵. 多囊肾病慢性进展的分子发病机制及治疗对策[J]. *中国实用内科杂志*, 2007, 27: 53-55.

- [3] 贺勤,李慎秋. 载脂蛋白 D 与肿瘤[J]. *国外医学肿瘤学分册*, 2004, 31: 745-747.
- [4] Do Carmo S, Levros L C Jr, Rassart E. Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773: 954-969.
- [5] Kaspereit-Rittinghausen J, Rapp K, Deerberg F, Weislo A, Mesow C. Hereditary polycystic kidney disease associated with osteorenal syndrome in rats[J]. *Vet Pathol*, 1989, 26: 195-201.
- [6] Loghman-Adham M, Nauli S M, Soto C E, Kariuki B, Zhou J. Immortalized epithelial cells from human autosomal dominant polycystic kidney cysts[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 285: F397-F412.
- [7] Nauli S M, Alenghat F J, Luo Y, Williams E, Vassilev P, Li X, et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells[J]. *Nat Genet*, 2003, 33: 129-137.
- [8] 许涛,王素霞,叶朝阳,梅长林. 塞来昔布通过抑制 COX-2 活性抑制 Han:SPRD 大鼠肾囊肿生长[J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30: 1140-1144.
Xu T, Wang S X, Ye C Y, Mei C L. Celecoxib inhibits proliferation of Han:SPRD rat renal cyst through inhibiting COX-2 activity[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2009, 30: 1140-1144.
- [9] 袁志忠,徐成钢,梅长林,高春芳. 洛伐他汀对多囊肾囊肿衬里上皮细胞 $\alpha 1(I)$ 胶原启动子活性的影响[J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32: 1038-1039.
Yuan Z Z, Xu C G, Mei C L, Gao C F. Effect of lovastatin on $\alpha 1(I)$ collagen promoter activity in cyst-lining epithelial cells of autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2011, 32: 1038-1039.
- [10] Rassart E, Bedirian A, Do Carmo S, Guinard O, Sirois J, Terrisse L, et al. Apolipoprotein D[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1482(1-2): 185-198.
- [11] Chen Y, Jia L, Wei C, Wang F, Lv H, Jia J. Association between polymorphisms in the apolipoprotein D gene and sporadic Alzheimer's disease[J]. *Brain Res*, 2008, 1233: 196-202.
- [12] Soiland H, Janssen E A, Körner H, Varhaug J E, Skaland I, Gudlaugsson E, et al. Apolipoprotein D predicts adverse outcome in women $\geq$ 70 years with operable breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 113: 519-528.
- [13] Rodríguez J C, Díaz M, González L O, Sánchez J, Sánchez M T, Merino A M, et al. Apolipoprotein D expression in benign and malignant prostate tissues[J]. *Int J Surg Investig*, 2000, 2: 319-326.
- [14] Appari M, Werner R, Wünsch L, Cario G, Demeter J, Hiort O, et al. Apolipoprotein D (APOD) is a putative biomarker of androgen receptor function in androgen insensitivity syndrome[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2009, 87: 623-632.
- [15] Sasaki Y, Negishi H, Koyama R, Anbo N, Otori K, Idogawa M, et al. p53 family members regulate the expression of the apolipoprotein D gene[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 872-883.

[本文编辑] 周燕娟,孙岩