

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.12.030

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210207.1422.006.html\(2021-02-07\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210207.1422.006.html(2021-02-07))

人趋化素样因子超家族成员 CMTM4 在疾病中对细胞功能的调控*

王雅心 综述,赵秀娟,朱凤雪[△] 审校

(北京大学人民医院创伤救治中心 100044)

[摘要] CMTM 家族是含有 MARVEL 穿膜结构域的蛋白质家族,其功能介于经典趋化因子和 TM4SF 之间,对肿瘤性疾病、免疫、造血、生殖系统疾病的发生、发展均具有一定影响。CMTM4 是 CMTM 家族中最保守的膜分子,广泛表达于人类多种正常组织,研究发现其在某些肿瘤中表达下调,加快肿瘤细胞增殖、侵袭,是潜在的抑癌基因;对程序性死亡受体 1(PD-L1)具有保护作用,间接调节机体免疫细胞功能,参与免疫逃逸;还对细胞连接和男性生殖系统疾病具有调控作用。本文对有关 CMTM4 分子的已有研究做一综述,介绍 CMTM4 在疾病背景下对细胞功能的调控作用,以期对日后对 CMTM4 的研究和临床转化方向提供借鉴。

[关键词] 趋化因子类;细胞周期;肿瘤;CMTM4;CKLF 蛋白;程序性死亡受体 1;黏附连接

[中图法分类号] R73.370 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)12-2116-05

Regulation of human chemokine-like superfamily member CMTM4 on cellular function in diseases*

WANG Yaxin, ZHAO Xiujuan, ZHU Fengxue[△]

(Trauma Center, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

[Abstract] The CMTM family is a protein family containing MARVEL transmembrane structural domains, whose functions are between classic chemokines and TM4SF, and have a certain effect on the occurrence and development of neoplastic disease and immune, hematopoietic, reproductive system diseases. CMTM4 is the most conservative membrane molecule in the family. It is widely expressed in a variety of normal human tissues. The studies have found that its expression is down-regulated in some tumors, which accelerates the tumor cell proliferation and invasion, and is a potential tumor suppressor gene. CMTM4 has the protective effect on PD-L1, indirectly regulates the body's immune cell function and participates in immune escape. It also has a regulatory effect on cell connections and male reproductive system diseases. This article summarizes the existing researches on the CMTM4 molecule, and introduces the regulation effect of CMTM4 on cell function in the context of disease, hoping to provide a reference for the future research and clinical transformation direction of CMTM4.

[Key words] chemotactic factors; cell cycle; neoplasms; CMTM4; CKLF protein; PD-L1; adherens junctions

CMTM 家族即趋化素样因子(CKLF)样含 MARVEL 穿膜结构域超家族(CMTM),由北京大学人类疾病基因研究中心韩文玲等率先在国际上报道^[1],利用经植物血凝素(PHA)刺激后的人髓系白血病 U937 细胞系分离出 CKLF,通过表达序列标签(ESTs)数据库和生物信息学分析陆续发现趋化素样因子超家族(CKLFSF)1~8。这 9 个在人类中表达的新基因对应的蛋白功能介于经典趋化因子和四跨膜蛋白超家族(M4SF)之间。2005 年国际人类基因命名

委员会(HUGO)依据编码产物含有的 MARVEL 穿膜结构域,将 CKLFSF1~8 更名为 CMTM1~8, CMTM4 是家族成员之一^[2-3]。含 MARVEL 结构域的蛋白一般都拥有四次跨膜区,参与膜蛋白转运与细胞间紧密连接的形成。近几年在肿瘤领域的研究发现 CMTM4 可能扮演抑癌基因的角色,表达水平的高低变化影响肿瘤细胞及相关免疫细胞的生物学功能,是潜在的癌症免疫治疗靶点,越来越多的研究团队将关注点投向 CMTM4。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81971808)。 作者简介:王雅心(1995-),在读硕士,主要从事脓毒症发病机制的研究。 [△] 通信作者, E-mail:fxzhu72@163.com。

1 CMTM4 的发现

2003 年北京大学人类疾病基因研究中心利用抑制性减数杂交技术(SSH)^[4-5],从经过 PHA 刺激同时 IL-10 抑制的 U937 细胞中发现 CKLF,在此基础上通过比对与分析,发现编码 234 个氨基酸的 CMTM4 全长 cDNA 序列,随后采用 PCR、DNA 测序和 Northern blot 成功验证这一新基因的真实存在,并将 CMTM4 的 cDNA 序列上传至 GenBank 数据库。随后,研究人员对人类和小鼠的 CMTM 家族基因进行比对,发现 CMTM4 的人鼠同源性和在整个家族中最高,达 97.6%,且在机体不同组织内广泛表达,这说明 CMTM4 在进化过程中高度保守。DNA 测序发现人类 CMTM4 含有 3 种剪接体 v1、v2、v3,而目前在小鼠体内仅发现 CMTM4-v2 的表达,与人类有 95.7% 的同源性,提示在动物实验中采用小鼠作为人类疾病研究的实验对象具有相对可靠性^[1]。

为了深入研究 CMTM4 的表达情况及生物学功能,该研究团队于 2007 年制备纯化出具有高效价、高特异性的 CMTM4 多肽抗体 Ab1 和 Ab2。Ab1 特异性识别 v1、v2 剪接体,还可识别天然构象的内源性蛋白,结合小鼠内源性 CMTM4,可用于 Western blot 及免疫组织化学实验;Ab2 仅可用于 Western blot 实验特异性识别 CMTM4-v1,不可用于免疫组织化学检测^[6]。多抗的研制为后续开展 CMTM4 功能研究提供可能。

2 CMTM4 的结构特征

CMTM4 与 CKLF、CMTM1-3 紧密分布在染色体 16q22.1 上形成基因簇,在诸多肿瘤研究中发现该位点附近经常发生基因改变,其中包含部分抑癌基因,所以该基因簇可能与抑癌作用相关^[7-9]。测序结果显示 CMTM4 含有 v1、v2、v3 三种不同剪接体,Northern blot 测得蛋白分子大小依次为 1.2、3.4、8.2 kb,分别对应编码 234、208 和 179 个氨基酸^[1],CMTM4-v2 是全长 cDNA 的产物,在小鼠与人类高度同源,所以是 3 种剪接体中最稳定、最保守的。在组织和细胞系内 CMTM4-v1 和 v2 表达颇为广泛,而 CMTM4-v3 表达较局限,只在肾和胎盘中被发现^[1,10]。NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>)提供的数据显示 CMTM4 在甲状腺中表达量最高,其次为脑、肾、结肠、肝、脾、淋巴结和骨髓中表达量最少,几乎不表达。CMTM4 属于膜蛋白,独特的 MARVEL 结构域及在细胞质膜、高尔基体膜及胞内囊泡上的定位(来自 The Human Protein Atlas 数据库,<https://www.proteinatlas.org/>),共同提示其可能具有调节跨膜运输与紧密连接形成的功能^[11],部分研究证实其调节包括血管内皮钙黏连蛋白(VE-cadherin)和程序性死亡受体 1(PD-L1)在内的膜分子的运输与稳定性,且在某些恶性肿瘤中表现出调节肿瘤细胞和相关免疫细胞生物学行为的作用^[12-15]。

3 CMTM4 在疾病中对细胞功能的调控

拥有特殊跨膜结构域的 CMTM 家族在人类疾病的发病、进展过程中均扮演着重要角色。已有研究证实家族成员在免疫、造血、循环、生殖等系统疾病中发挥作用,对肿瘤的生长、侵袭、转移亦具有一定影响^[16-21]。由于 CMTM4 基因在染色体上的定位附近存在一定数量抑癌基因,且利用 NCBI、GEO、TCGA、TumourProfile 等数据库完成生物信息学分析后均发现,在某些肿瘤疾病中癌组织 CMTM4 基因表达量低于正常组织,研究者们便将关注点集中于探究 CMTM4 对肿瘤发生发展的影响,对采集的肿瘤与正常组织标本进行基因和蛋白水平检测,均发现具有表达差异——癌组织 CMTM4 水平低于癌旁组织。为进一步明确该基因对细胞生物学行为及功能的影响,实验人员在体外利用基因编辑技术干预细胞 CMTM4 表达水平,分别从细胞增殖与细胞周期、迁移与侵袭能力、细胞凋亡等方面入手进行研究^[15,22]。此外,研究者还发现其在非肿瘤疾病中也存在调节作用。以下将对已证实的 CMTM4 对细胞功能的影响分类进行阐述。

3.1 对细胞增殖与细胞周期的影响

CMTM4 表达水平对细胞增殖能力具有明显影响作用。最初,KITTLER 等^[23]从 5 305 个 esiRNAs (endoribonuclease-prepared short interfering)中筛选出 37 个对 HeLa 细胞增殖分裂有影响的基因,CMTM4 便是其中之一,敲除 CMTM4 基因不会终止细胞有丝分裂,纺锤体形态正常,亦不致细胞死亡,但可导致有丝分裂时胞质分裂异常,形成双核细胞。2010 年 PLATE 等^[14]观察到的这一现象开展更加深入的机制研究,利用质粒过表达 HeLa 细胞 CMTM4 基因,发现活细胞计数、细胞集落形成数目均明显减少。细胞周期是影响细胞增殖的关键机制,从流式细胞分析得到的细胞周期结果来看,无论是否预先对周期进行同步化处理,过表达 CMTM4 均导致细胞大量阻滞于 G₂/M 期,阻止细胞增殖^[14]。上述两个团队的结果共同证明 CMTM4 对 HeLa 细胞增殖与细胞周期均产生影响。除明确了对 HeLa 细胞有影响外,有学者还先后在肾透明细胞癌(ccRCC)^[22]和结直肠癌(CRC)^[15]中得出同样的结论,通过上调及下调细胞 CMTM4 基因水平,借助 CCK-8 及活细胞计数观察到 CMTM4 对 786-O、HT29、SW480 细胞系的增殖具有与对 HeLa 细胞相同的影响,流式检测也看到相同的细胞周期变化规律。

除肿瘤细胞外,荷兰学者沉默及过表达 HU-VECs 细胞系 CMTM4 基因,发现 CMTM4 表达减少对细胞增殖影响不大,但过表达导致细胞生长抑制,细胞周期停滞于 G₀/G₁ 期^[12]。这与在肿瘤中的研究结论存在差异,提示在非肿瘤性疾病中,CMTM4 可能对细胞增殖和细胞周期发挥不完全一致的调节作

用,存在分别研究的必要性。

在机制方面,目前仅有对 ccRCC 及 CRC 细胞的研究,且两者机制并不相同。通过检测 ccRCC 786-O 细胞周期调控的标志物表达水平发现,无论在转录还是翻译水平上,CMTM4 均上调细胞周期调控基因 p21 表达,上调的 p21 抑制 Cdk1/CyclinB 复合物对周期的调控作用致 G₂/M 期阻滞,从而抑制 786-O 细胞增殖;另外,对参与调节 CRC 细胞增殖的信号通路进行 Western blot 检测,发现高表达 CMTM4 降低了 AKT、ERK1/2、STAT3 通路磷酸化水平,从而抑制 CRC 细胞生长^[15,22]。有趣的是,在 ccRCC 的 786-O 细胞中作为 p21 上游分子的 p53 未被检测到激活,所以 CMTM4 是如何上调 p21 的还需进一步研究。

3.2 对细胞迁移与侵袭能力的影响

BEI 等^[24]针对 CMTM4 与肝细胞肝癌(HCC)患者肿瘤临床病理特征进行相关性分析,发现 CMTM4 表达水平与肿瘤大小、淋巴结及远处转移、临床分期都密切相关。随后研究者利用划痕实验与 Transwell 实验观察 CMTM4 水平对细胞迁移与侵袭能力的影响,过表达 CMTM4 后的 ccRCC 786-O 和 CRC SW480 其迁移与侵袭能力均明显减弱,而下调则使 CRC HT29 能力增强。在 ccRCC 中,CMTM4 高表达上调 p21 水平,通过抑制 Rho GTP 酶及相关信号通路影响细胞迁移;而在 CRC 中,CMTM4 发挥的抑制作用是借助 AKT、ERK1/2、STAT3 通路磷酸化水平降低实现的,但这并不一定适用于其他肿瘤细胞,还需大量研究对机制进行探索^[15,22]。与上述研究结论不同的是,CHRIFI 等^[12]利用划痕实验发现,过表达 CMTM4 后的 HUVECs 并不对细胞迁移产生影响,但沉默会导致其迁移能力显著下降。

3.3 对细胞凋亡的影响

北京大学人类疾病基因研究中心先后对 CMTM4 过表达的 HeLa 细胞^[14]、786-O 细胞^[22]和 SW480 细胞^[15]进行 Annexin V-PI 染色及流式检测,均未观察到细胞凋亡的发生。从现有实验结果看,CMTM4 分子似乎与实体肿瘤细胞凋亡并无太大关系,并不直接致细胞凋亡。

这是否代表 CMTM4 与凋亡不存在任何联系呢?并非如此。ZHANG 等^[9]在研究 miR-205 对慢性肾病(CKD)的影响时发现 CMTM4 可使肾细胞发生凋亡。CMTM4 mRNA 的 3'UTR 区域有两个 miR-205 结合位点,结合后可在转录水平调节 CMTM4 mRNA 活性。在体外对 HK-2 细胞上调 miR-205 表达可保护细胞不发生凋亡,利用 Western blot 和双荧光素报告酶基因实验检测过表达 miR-205 的 HK-2 细胞时,均显示 CMTM4 表达减少。由此得知,miR-205 通过减少 CMTM4 表达量实现对肾细胞凋亡的抑制作用,CMTM4 影响肾细胞凋亡,高表达的 CMTM4 促进凋亡发生。

此外,MEZZADRA 等^[13]和 BURR 等^[25]在 Nature 上分别发表了关于 CMTM 与 PD-L1 蛋白存在相互作用的文章,其共同证明 CMTM6 是调控 PD-L1 蛋白稳定性与半衰期的关键分子。而在 MEZZADRA 等^[13]的研究中发现 CMTM4 作为 CMTM6 的替代分子,与 CMTM6 具有相同的功能,备用调控及保护 PD-L1。MEZZADRA 等^[13]在实验中敲低 12 种肿瘤细胞系模型 CMTM6 基因,结果显示无论是细胞固有表达的 PD-L1,还是受 IFN- γ 诱导产生的 PD-L1,其蛋白水平均有 2~10 倍不同程度的降低;此外在免疫方面,在抗原呈递细胞如树突状细胞(DCs)上亦是如此。CMTM4 与 CMTM6 有 55% 同源性,与 PD-L1 共表达在肿瘤细胞和抗原呈递细胞膜上,两个基因的表达并不影响 PD-L1 转录水平,而是影响从内质网运输出的蛋白活性,在翻译水平进行保护,防止其被泛素化降解,延长半衰期,从而增加 PD-L1 在肿瘤细胞和抗原呈递细胞膜上的蛋白水平。该调控作用不借助 IFN- γ R 介导的信号通路,亦不影响组织相容性复合体 I (MHC-I) 和 PD-L2 水平。上调的 PD-L1 与更多的 T 细胞膜上 PD-1 结合,负向调控 T 细胞功能,T 细胞增殖减少、凋亡增多,导致肿瘤免疫逃逸。当然,PD-1/PD-L1 信号通路不仅仅影响肿瘤中 T 细胞功能,在细菌感染中同样发挥重要作用^[26]。所以,CMTM4 可通过对 PD-L1 的调控,间接影响表达 PD-1 的 T 细胞发生凋亡^[13,27]。

3.4 对细胞连接的影响

参与和(或)调节细胞连接的形成是跨膜蛋白最本质的功能特性,细胞间黏附连接(AJs)对于维持血管内皮完整性十分重要,参与血管出芽、新生血管形成过程。VE-cadherin 是形成细胞间黏附连接的关键分子,而 CMTM4 正对其具有调节作用。CHRIFI 等^[12]沉默斑马鱼 CMTM4 基因,观察到肌间血管生成障碍;胞内免疫荧光染色显示 CMTM4 不仅与 VE-cadherin 共定位于细胞膜上,还在胞内共定位于循环利用 VE-cadherin 的 Rab4⁺, Rab7⁺, EEA1⁺, Rab11⁺ 囊泡上,借助细胞内吞循环运输通路促进其内化循环的同时,部分囊泡还与溶酶体结合发生降解,加快细胞膜上 VE-cadherin 新旧更替及 AJs 形成,调节内皮细胞连接分子的黏附力以增强内皮细胞屏障功能,但 CMTM4 不具备促进 VE-cadherin 合成的能力,并不改变细胞总体蛋白量。总的来说,CMTM4 促进 VE-cadherin 在细胞表面的再利用,形成黏附连接,调节血管生成和出芽。

3.5 其他

除影响体细胞功能,CMTM4 对男性生殖细胞亦有调控作用。LIU 等^[28]根据 CMTM4 在睾丸中高度保守表达这一发现推测其在男性生殖系统中发挥一定作用^[1,14],在对无精症和弱精症患者、老年患者及 CMTM4 基因敲除小鼠模型进行表型变化和蛋白组

学分析后,发现 CMTM4 表达量减少可通过抑制精子运动能力和顶体反应从而降低男性生育能力。随后研究者对 CMTM4-KO 小鼠的睾丸和精子进行定量蛋白组学分析,发现表达上调的蛋白基本与细胞物质运输和 DNA 结合有关,影响精子代谢功能;表达下调的蛋白主要与信号转导、 α/β -微管蛋白及肌动蛋白的结合力和蛋白酶/蛋白酶抑制剂活性有关,阻碍精子生成过程中组蛋白向精蛋白的转化,抑制精子活力和顶体反应等功能,减少精子产生,降低精子质量^[29]。

4 小 结

既往研究证明在不同疾病背景下,CMTM4 差异表达会影响某些细胞功能,参与疾病的发生发展。在肿瘤领域,利用 GEO、TCGA 等数据库进行生物信息学分析后,再采集临床标本做基因及蛋白水平验证,均发现与正常癌旁组织相比,CMTM4 在癌组织的表达显著降低;利用基因编辑的动物及细胞模型进行体内外实验,发现 CMTM4 高表达会抑制肿瘤细胞生长、增殖等生物学行为。目前在非肿瘤性疾病领域的研究较少,已证实的是 CMTM4 参与男性不育疾病的发生;另外,CMTM4 对血管内皮细胞黏附连接具有调节作用,在发生血管渗漏、破裂、血管再生障碍的疾病中扮演重要角色。

CMTM4 在临床疾病中的研究仍处于起步阶段,现有研究虽已在部分疾病背景下对其功能及少数机制方面有所涉及,但无论在疾病模型还是作用机制方面,均有非常大的探索空间。目前的研究主要集中在肿瘤领域,但从 MEZZADRA 等^[13]和 BURR 等^[25]发表在 Nature 上的成果来看,CMTM4 可通过干预 PD-L1 活性及半衰期来间接影响机体的获得性免疫功能。所以在干预机体免疫系统功能、引发炎症反应的疾病中,CMTM4 或许会影响疾病的病理生理过程,成为一个潜在的诊断标志物或治疗靶点。CMTM4 在膜上表达量的改变是否可用作诊断、分期指标,CMTM4 是否可作为药物作用的新靶点用于疾病的治疗,有待后续的研究来证实。另外,在机制方面,作为膜蛋白其是否存在于外分泌囊泡中干预信号物质分泌,尚无从得知,仍存在很多空白亟待研究深入,以支持、指导 CMTM4 在临床疾病中的应用。

参考文献

- [1] HAN W, DING P, XU M, et al. Identification of eight genes encoding chemokine-like factor superfamily members 1-8 (CKLFSF1-8) by in silico cloning and experimental validation[J]. *Genomics*, 2003, 81(6): 609-617.
- [2] HAN W, LOU Y, TANG J, et al. Molecular cloning and characterization of chemokine-like factor 1 (CKLF1), a novel human cytokine with unique structure and potential chemotactic activity[J]. *Biochem J*, 2001, 357 (Pt 1): 127-135.
- [3] WU K, LI X, GU H, et al. Research advances in CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing family in non-small cell lung cancer[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(12): 2576-2583.
- [4] BERNSTEIN E, CAUDY A A, HAMMOND S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-366.
- [5] ZHENG L, LIU J, BATALOV S, et al. An approach to genomewide screens of expressed small interfering RNAs in mammalian cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(1): 135-140.
- [6] 李婷, 郭晓欢, 王彧, 等. 抗 CMTM4 多克隆抗体的制备、纯化和鉴定[J]. *细胞与分子免疫学杂志* 2008, 24(1): 41-44.
- [7] DOWNING T E, OKTAY M H, FAZZARI M J, et al. Prognostic and predictive value of 16p12.1 and 16q22.1 copy number changes in human breast cancer[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 198(1): 52-61.
- [8] FU L, DONG S S, XIE Y W, et al. Down-regulation of tyrosine aminotransferase at a frequently deleted region 16q22 contributes to the pathogenesis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2010, 51(5): 1624-1634.
- [9] ZHANG H, ZHANG X, YUAN X, et al. MicroRNA-205 inhibits renal cells apoptosis via targeting CMTM4[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2015, 18(10): 1020-1026.
- [10] 查鹏, 姜冠潮, 王俊. 食管、贲门癌组织中 CMTM4、8 的表达及意义[J]. *山东医药*, 2009, 49(6): 21-22.
- [11] SÁNCHEZ-PULIDO L, MARTÍN-BELMONTE F, VALENCIA A, et al. MARVEL: a conserved domain involved in membrane apposition events[J]. *Trends Biochem Sci*, 2002, 27(12): 599-601.
- [12] CHRIFI I, LOUZAO-MARTINEZ L, BRANDT M M, et al. CMTM4 regulates angiogenesis by promoting cell surface recycling of VE-cadherin to endothelial adherens junctions[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(1): 75-93.
- [13] MEZZADRA R, SUN C, JAE L T, et al. Identification of CMTM6 and CMTM4 as PD-L1 protein regulators[J]. *Nature*, 2017, 549 (7670): 106-110.

- [14] PLATE M, LI T, WANG Y, et al. Identification and characterization of CMTM4, a novel gene with inhibitory effects on HeLa cell growth through Inducing G2/M phase accumulation [J]. *Mol Cells*, 2010, 29(4): 355-361.
- [15] XUE H, LI T, WANG P, et al. CMTM4 inhibits cell proliferation and migration via AKT, ERK1/2, and STAT3 pathway in colorectal cancer [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(9): 915-924.
- [16] LU J, WU Q Q, ZHOU Y B, et al. Cancer research advance in CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing member family (review) [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(6): 2741-2744.
- [17] WANG J M, DENG X, GONG W, et al. Chemokines and their role in tumor growth and metastasis [J]. *J Immunol Methods*, 1998, 220(1/2): 1-17.
- [18] YUAN W, LIU B, WANG X, et al. CMTM3 decreases EGFR expression and EGF-mediated tumorigenicity by promoting Rab5 activity in gastric cancer [J]. *Cancer Lett*, 2017, 386: 77-86.
- [19] ZHANG J W, LIU T F, CHEN X H, et al. Validation of aspirin response-related transcripts in patients with coronary artery disease and preliminary investigation on CMTM5 function [J]. *Gene*, 2017, 624: 56-65.
- [20] 张晓威, 兰轲, 杨文博, 等. 膜蛋白 CMTM2 在人睾丸和精子中的表达及定位 [J]. *北京大学学报 (医学版)*, 2017, 49(4): 575-579.
- [21] 卜梁. 人类趋化素样因子超家族成员 CKLF1、CMTM1、CMTM2、CMTM4 在非小细胞肺癌中的表达 [D]. 北京: 北京大学, 2008.
- [22] LI T, CHENG Y, WANG P, et al. CMTM4 is frequently downregulated and functions as a tumour suppressor in clear cell renal cell carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 122.
- [23] KITTLER R, PUTZ G, PELLETIER L, et al. An endoribonuclease-prepared siRNA screen in human cells identifies genes essential for cell division [J]. *Nature*, 2004, 432(7020): 1036-1040.
- [24] BEI C, ZHANG Y, WEI R, et al. Clinical significance of CMTM4 expression in hepatocellular carcinoma [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 5439-5443.
- [25] BURR M L, SPARBIER C E, CHAN Y C, et al. CMTM6 maintains the expression of PD-L1 and regulates anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2017, 549(7670): 101-105.
- [26] BOUSSIOTIS V A. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(18): 1767-1778.
- [27] DANILOVA L, WANG H, SUNSHINE J, et al. Association of PD-1/PD-L axis expression with cytolytic activity, mutational load, and prognosis in melanoma and other solid tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(48): E7769-7777.
- [28] LIU F, LIU X, LIU X, et al. Integrated analyses of phenotype and quantitative proteome of CMTM4 deficient mice reveal its association with male fertility [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2019, 18(6): 1070-1084.
- [29] ZHAO W, ZHAO F, YANG K, et al. An immunophenotyping of renal clear cell carcinoma with characteristics and a potential therapeutic target for patients insensitive to immune checkpoint blockade [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 13330-13341.

(收稿日期: 2020-09-23 修回日期: 2021-01-13)