

Apelin/APJ 系统:动脉粥样硬化治疗新靶点

李赫宁^{1,2}, 陈临溪¹

(1. 南华大学药学院药物药理研究所 湖南省分子靶标新药研究协同创新中心, 湖南省衡阳市 421001;

2. 岳阳市第一人民医院药剂科, 湖南省岳阳市 414000)

[专家简介] 陈临溪, 博士, 二级教授, 美国 Johns Hopkins 大学博士后, 博士研究生导师, 湖南省青年骨干教师, 国家自然科学基金通讯评议专家;《Journal of Biochemistry and Molecular Biology Research》《中国动脉硬化杂志》等期刊编委,《Open Biology》《The International Journal of Biochemistry & Cell Biology》《中国动脉硬化杂志》等期刊审稿专家。致力于 Apelin/APJ 系统与高血压、动脉硬化、心肌肥厚、血小板聚集等关系及分子机理, 基于生物信息学的 APJ 受体药物分子设计、合成与活性筛选、评价与临床应用等研究。主持国家自然科学基金 3 项, 教育部留学回国人员科研启动基金 1 项, 湖南省自然科学基金省市联合基金(衡阳)重点项目 1 项, 其他课题多项。以第一作者和通信作者在《Free Radic Biol Med》《Cell Physiol Biochem》《Int J Cardiol》《J Cell Physiol》《Front Biosci》《Current Drug Targets》等期刊发表科研论文 120 多篇, 其中第一作者和通信作者 SCI 论文 79 篇, 总 IF 为 199.824, 单篇最高 IF 为 6.189。获湖南医学科技奖二等奖 1 项; 第一主编出版专著共 5 部, 参编专著 2 部, 申请国家发明专利共 11 项。



[关键词] Apelin/APJ 受体; 动脉粥样硬化; 细胞增殖; 细胞黏附; 自噬

[摘要] 动脉粥样硬化性(As)疾病已成为人类死亡的首要病因。Apelin/APJ 受体广泛存在于心血管系统, 参与多种心血管疾病的发生发展。Apelin/APJ 系统对动脉粥样硬化作用的研究提示, Apelin 对动脉粥样硬化的发生发展具有双重作用。一方面, Apelin 可促进血管平滑肌细胞、内皮细胞增殖和迁移, 诱导单核细胞向内皮细胞黏附, 还可促进血管新生, 影响 As 斑块的稳定性。另一方面, Apelin 可拮抗 Ang II 的作用, 调控细胞内脂代谢, 减少内皮细胞活性氧的产生和细胞衰老, 防止巨噬细胞转化为泡沫细胞, 对已形成 As 斑块具有一定的稳定作用, 还可以抑制血小板活化, 减少动脉粥样硬化并发症的发生。同时, 作为保护或损伤机体的双刃剑, 自噬可能是 Apelin 作用于动脉粥样硬化的重要靶点之一。本文从以上几个方面对 Apelin/APJ 系统与动脉粥样硬化的研究进行总结分析, 探讨 Apelin/APJ 受体成为预防或治疗动脉粥样硬化靶点的可能性。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Apelin/APJ system: a new target of atherosclerosis

LI Hening^{1,2}, CHEN Linxi¹

(1. Institute of Pharmacy and Pharmacology, Hunan Province Cooperative Innovation Center for Molecular Target New Drug Study, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Yueyang, Yueyang, Hunan 414000, China)

[KEY WORDS] Apelin/APJ receptor; atherosclerosis; proliferation; adhesion; autophagy

[ABSTRACT] Atherosclerotic diseases have become the leading cause of human death. Apelin/APJ receptors is widely found in the cardiovascular system, and is involved in the occurrence and development of a variety of cardiovascular diseases. Studies on the effects of Apelin/APJ system on atherosclerosis suggested that Apelin has dual effects on atherosclerosis. On the one hand, Apelin can promote the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells and endo-

[收稿日期] 2019-03-10

[修回日期] 2019-05-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81470434)

[作者简介] 李赫宁, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为心血管分子药理学, E-mail 为 285035163@qq.com。通信作者陈临溪, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管分子药理学、药物生物信息学与新药分子设计评价, E-mail 为 lxchen6@126.com。

thelial cells, and induce mononuclear cell adhesion to endothelial cells, which could promote angiogenesis, and affect the stability of As plaques. On the other hand, Apelin can antagonize Ang II to regulate intracellular lipid metabolism, and reduce the generation of endothelial reactive oxygen species and cellular aging, prevent macrophages from turning into foam cells, and have a certain stabilizing effect on the As plaque that has been formed. In addition, it can also inhibit platelet activation, ultimately reducing the occurrence of atherosclerosis complications. Meanwhile, as a double-edged sword with protection or damage, autophagy may be one of the important targets of Apelin in atherosclerosis. This paper summarizes the research on Apelin/APJ system and atherosclerosis in the above aspects, and explores the possibility of Apelin/APJ receptor as a target for preventing or treating atherosclerosis.

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一种可致心血管功能紊乱的慢性炎症过程, 是心脑血管疾病及人类死亡的首要病理基础。As 的发生发展主要包括 4 个阶段: 首先是血管内皮细胞损伤; 进而血管通透性增加, 单核细胞聚集于血管内膜转化为巨噬细胞, 吞噬脂质形成泡沫细胞; 然后血管平滑肌细胞不断增殖和迁移, 斑块不断增大; 最后失稳斑块破裂脱落, 发生急性冠状动脉事件^[1]。

1993 年 O'Dowd 等^[2]首次发现并报道一种与血管紧张素 I 型受体相关的 G 蛋白偶联受体, 被称为 APJ 受体, 其由 380 个氨基酸组成, 氨基酸排列与血管紧张素 I 型受体的疏水区域有 40% ~ 50% 的同源性。1998 年 Tatemoto 等^[3]从牛胃中分离出 APJ 受体的内源性配体, 被称为 Apelin, 其蛋白质前体由 77 个氨基酸残基组成, 经水解、修饰后, 生成具有生物活性的多肽片段, 分别为 Apelin-36、Apelin-17、Apelin-13、Apelin-12 等, 其中 Apelin-13 和 Apelin-36 是内源性 Apelin 的主要形式^[4]。Apelin/APJ 受体广泛表达于心、肾、肝、脂肪及血管组织, 并具有广泛的生理及病理作用。在心血管系统中, Apelin/APJ 受体主要分布于血管平滑肌细胞、内皮细胞和心肌细胞, 参与血压稳态、血管形成及功能维持和调控、细胞增殖及炎症免疫的调控^[5]。这些都表明 Apelin/APJ 系统在心血管疾病 (如动脉粥样硬化) 中具有重要的作用。本课题组发现 Apelin/APJ 系统在动脉粥样硬化发生发展过程中有推动作用^[6], 并多次讨论两者之间的联系^[7-8]。然而有研究认为 Apelin 可抑制 As 形成, Chun 等^[9]研究证实 Apelin 通过抗血管紧张素作用抑制 As 形成。本文将通过分析 Apelin/APJ 系统对 As 的作用及作用机制, 来综述两者之间的联系。

1 动脉粥样硬化与 Apelin

关于动脉粥样硬化患者血中 Apelin 水平的研究结果并不完全一致。Rittig 等^[10]通过评估 Apelin

作为动脉粥样硬化早期危险指标的意义, 发现有 As 倾向的年轻患者血清 Apelin36 水平与早期的 As 无明显关联。研究发现, 维持性血液透析合并有动脉粥样硬化患者血清 Apelin 水平较无动脉粥样硬化的血透患者明显降低, 其可能通过促进超敏 C-反应蛋白 (hypersensitive C reactive protein, hsCRP)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等炎症因子的产生, 参与血管内皮损伤和动脉粥样硬化的进展, 他们认为低 Apelin 血症可能是影响维持性血液透析患者动脉粥样硬化发展的独立危险因素^[11]。而 Dogan 等^[12]同样对血透患者进行研究发现, 患者血清 Apelin-13 与颈动脉内膜-中膜厚度呈显著正相关。Karbek 等^[13]对代谢综合征患者血清 Apelin-12、36 水平与颈动脉内膜-中膜厚度进行相关性分析, 发现该类患者血清 Apelin-12、36 水平与颈动脉内膜-中膜厚度都有明显升高。与健康儿童相比, I 型糖尿病儿童血清 Apelin 水平与颈动脉内膜-中膜厚度呈显著正相关, 这也暗示血清 Apelin 升高可能成为动脉粥样硬化早期预测因素^[14]。这一矛盾的结果可能是由于患者基础疾病、检测方法和 Apelin 的多效性造成的。

2 Apelin 促进动脉粥样硬化发生发展

Hashimoto 等^[15]发现 Apelin/APJ 系统介导血管组织氧化应激过程, 是氧化应激相关性动脉粥样硬化的关键因素。本课题组同样也发现 Apelin-13 可以促进人脐静脉内皮细胞活性氧产生, 通过氧化应激-自噬途径促进单核细胞与人脐静脉内皮细胞黏附, 并在高脂喂养的载脂蛋白 E (ApoE) 敲除小鼠模型中得到证实^[6]。这提示 Apelin/APJ 系统可能具有促动脉粥样硬化的作用。

2.1 Apelin 促进血管平滑肌细胞增殖、迁移

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 增殖是 As 发生的重要因素。本课题组首次

报道 Apelin 通过 ERK/cyclinD1 途径促进 VSMC 增殖(图 1), 之后又发现 Apelin 可通过 PI3K/Akt/ERK/CyclinD1 信号通路和 Jagged-1/Notch3/CyclinD1 信号通路诱导 VSMC 增殖(图 1)。这些研究都表明 Apelin 可促进 Cyclin D1 的表达, 而 Cyclin D1 被证明是调节细胞增殖 G1 期到 S 期的重要蛋白。因此, Apelin 可以促进细胞从 G0/G1 期向 S 期的转换, 减少 G0/G1 期, 增加 S 期细胞数量, 从而加速细胞周期促进细胞增殖^[16]。近期本课题组又发现 Apelin-13 可通过磷酸化 AMPK α 使 Drp1 表达增加, 诱导 PINK1/Parkin 相关的线粒体自噬, 促进 VSMC 增殖, 加剧动脉粥样硬化的进展^[17](图 1)。但是, 在低氧环境下, Apelin 可能发挥不同的作用。

Eyries 等^[18]证实缺氧可引起 VSMCs 和内皮细胞中 Apelin 的表达增加, 另有文章报道 Apelin 可减少肺动脉平滑肌细胞(PAsMCs)在缺氧环境下的细胞增殖, 自噬的激活参与了缺氧条件下 PAsMCs 的增殖, 而 Apelin 通过激活 PI3K/Akt/mTOR 逆转了这种自噬和增殖^[19]。大量证据表明 Apelin 可以通过调节细胞周期或 PI3K 通路等促进 VSMC 的增殖, 而在缺氧条件下, Apelin 有相反的作用, 可以保护 VSMC 不发生凋亡, 促进血管疾病期间的血管重构。Apelin/APJ 系统与 VSMC 的不同作用可能是因为外界因素激活了不同的信号通路导致的, 具体原因和机制尚不清楚, 仍需要通过更多的研究来解释。

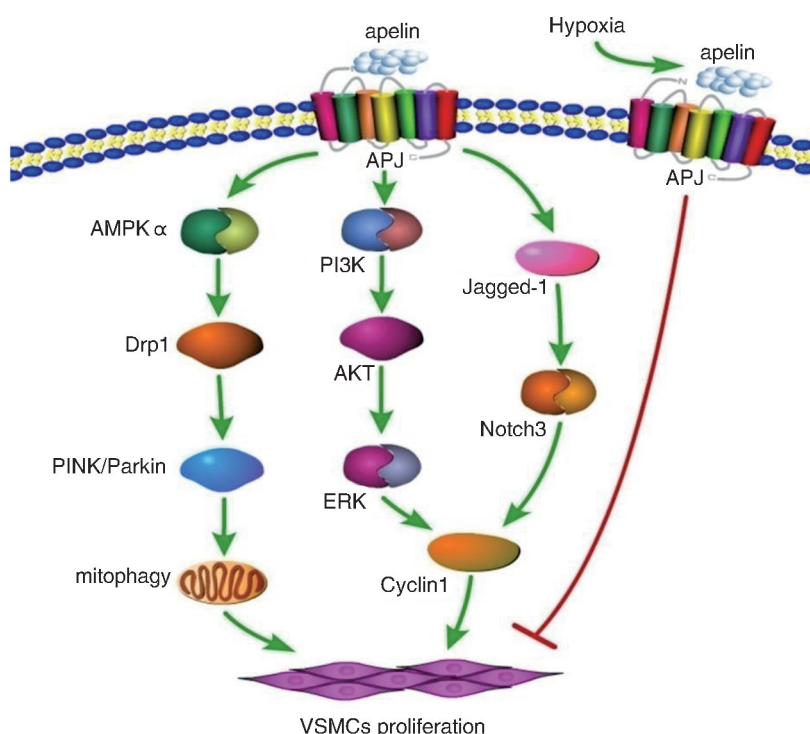


图 1. Apelin 对平滑肌细胞增殖的影响

Figure 1. Effect of apelin on proliferation of smooth muscle cells

VSMC 迁移在动脉粥样硬化的发生发展中同样起着重要的作用。正常情况下, VSMC 并不活跃, 在受到某些生长因子、机械创伤或其他刺激后, VSMC 增殖迁移至内膜成为泡沫细胞, 释放大量的生长因子、血管活性物质和细胞因子, 刺激 VSMC 进一步增殖^[20]。Liu 等^[21]报道 Apelin 通过上调早期生长反应因子 1 (Egr-1) 和骨桥蛋白 (OPN) 来增强 VSMC 迁移。此外, Apelin 通过激活 PI3K/Akt 诱导 FoxO3a (Forkhead box O3a) 磷酸化, 促进其从细胞核转位至细胞质, 增加基质金属蛋白酶 2 (matrix met-

alloproteinase 2, MMP-2) 表达, 最终使 VSMC 迁移^[22]。然而, Zhang 等^[19]报道 Apelin 可抑制缺氧环境下 VSMC 的迁移。综上所述, Apelin/APJ 系统对 VSMC 迁移的影响也可能是潜在的动脉粥样硬化新治疗策略。

2.2 Apelin 促进单核细胞向血管内皮细胞黏附

Apelin/APJ 系统可能参与动脉粥样硬化斑块的形成。本课题组前期研究发现 Apelin-13 转导通路诱导 HUVECs 黏附分子 VCAM-1 的表达, 增加 MCs 对 HUVECs 的黏附^[23]。Apelin-13 在 HUVECs

中以浓度依赖和时间依赖的方式促进 PI3K 磷酸化(图 2), PI3K 抑制剂 LY294002 可显著抑制 Apelin-13 诱导的 MCs 对 HUVECs 的黏附和 VCAM-1 的表达。Lu 等^[24]报道了类似的结果, Apelin 通过 NF- κ B/JNK 途径诱导 HUVECs 表达黏附蛋白 ICAM-1、VCAM-1 和趋化因子 MCP-1 的表达(图 2)。本课题组还发现 Apelin-13 可以促进 HUVECs 中活性氧

(ROS) 的生成和 NOX4 的表达, 同时诱导细胞发生自噬, 增加自噬相关蛋白 beclin1 和 LC3-II/I 表达, 增加自噬流, 最终诱导 HUVECs 的黏附蛋白 ICAM-1 表达增加, 促进单核细胞与 HUVECs 黏附^[6](图 2)。在高脂喂养的 ApoE 敲除小鼠动物模型中, Apelin-13 通过 ROS-自噬途径诱导动脉粥样硬化斑块形成也得到证实^[6]。

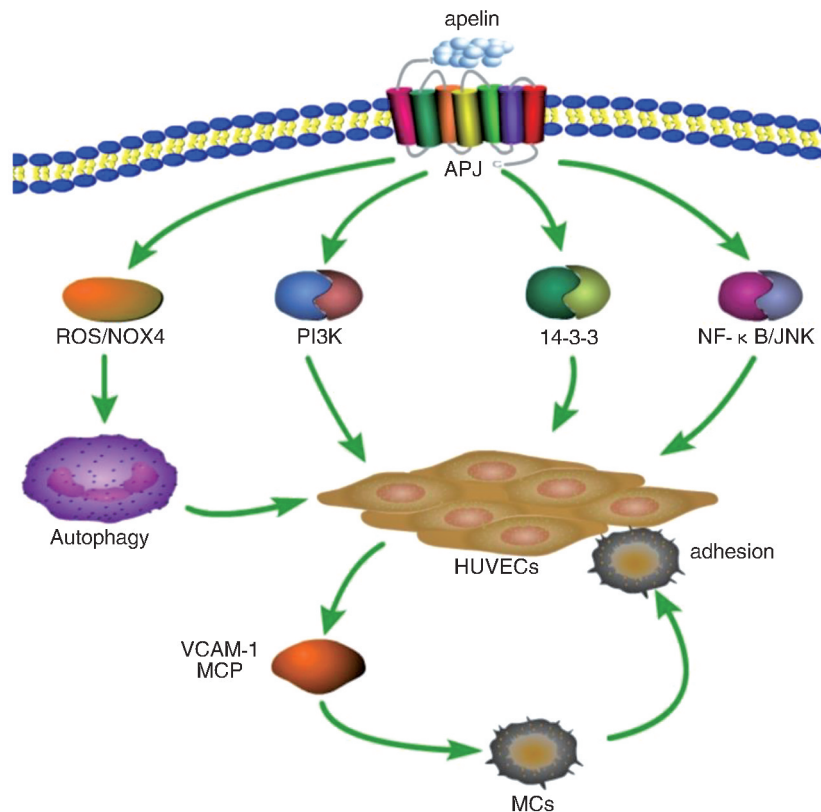


图 2. Apelin/APJ 参与单核细胞-血管内皮细胞黏附过程

Figure 2. Apelin/APJ participates in the adhesion process between monocytes and vascular endothelial cells

2.3 Apelin 促进血管新生, 改变动脉粥样硬化斑块稳定性

血管新生是指基于原有的毛细血管, 通过血管内皮细胞的增殖与迁移, 从已存在的血管中以芽生或非芽生的形式生成新的毛细血管的过程。最近研究发现, 动脉粥样硬化斑块内血管新生以及其在斑块进展中的作用, 可能改变斑块的稳定性, 引起严重的并发症, 如斑块破裂和出血等。血管生成是一个极其复杂的过程, 涉及几个相互关联的步骤: 包括 ECs 的迁移、增殖和毛细血管的形成。多篇文章证实 Apelin 参与血管生成的多个步骤, 具有促血管新生作用。有报道称 Apelin 是内皮细胞的促细胞分裂剂, 对人脐静脉内皮细胞、视网膜内皮细胞、心肌微血管内皮细胞、内皮祖细胞等具有促增殖作

用。也有文章报道 Apelin 可以促进内皮细胞迁移, Berta 等^[25]发现 Apelin 可促进淋巴内皮细胞迁移。Kwon 等^[26]发现 Apelin 通过影响 ECs 在血流剪切应力诱导下的极化来促进 ECs 的迁移。另有研究表明, APJ 基因敲除抑制了 Apelin 诱导的 ECs 迁移, 而 Apelin 基因敲除对 ECs 迁移没有影响^[27]。在人类非小细胞肺癌的研究中发现, 外源性的 Apelin 加速了肿瘤的生长, 增加了肿瘤微血管密度, 而下调 Apelin 或者使用 Apelin 和 APJ 的抑制剂, 可抑制血管生成。还有其他研究证明 Apelin 缺陷 (Apelin KO) 小鼠视网膜血管化和眼睛发育受到抑制, Apelin 缺陷的小鼠和斑马鱼体内血管生成延缓。而 APJ 拮抗剂 F13A 治疗门脉高压大鼠模型时, 内脏新生血管的形成减少。APJ 的另一种拮抗剂 ML221

在氧诱导视网膜病变(OIR)小鼠模型中抑制病理性视网膜血管生成。总之,Apelin/APJ 系统可以促进血管生成,可能为促动脉粥样硬化的发展或发生并发症的原因之一。

3 Apelin 抑制动脉粥样硬化的发生发展

Apelin/APJ 系统对 As 影响的研究结果并不一致,部分研究提示在一定条件下 Apelin/APJ 系统可以抑制动脉粥样硬化的发生及维持。研究表明肾素血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAs)的异常激活及其介导的炎症、氧化应激、内皮功能紊乱均参与动脉粥样硬化的发生发展^[28]。Ang II 是 RAs 的关键效应分子,主要由 Ang II 1 型(AT1)受体介导其生物学效应,其直接促进血管炎症和氧化应激反应,促进血管内皮细胞及平滑肌细胞的迁移、增殖,最终导致 As^[29]。Apelin 与 Ang II 的序列具有一定的同源性,Apelin 的受体 APJ 和 AT1 受体在心血管组织有共表达。有研究认为 Apelin/APJ 受体与 Ang II/AT1 受体之间具有拮抗作用,APJ 受体与 AT1 受体可形成 Apelin 依赖性的异质二聚体,降低 ANG II 与 AT1 受体亲和力,而 Ang II/AT1 受体信号并不会抑制 Apelin/APJ 系统的活性^[30]。这提示 Apelin/APJ 系统可能具有抗动脉粥样硬化作用。

3.1 Apelin 通过 eNOS 清除活性氧拮抗血管紧张素 II 作用

Chun 等^[9]发现在 ApoE 敲除小鼠模型中,外源性 Ang II 可诱导动脉粥样硬化得形成,但联合注射 Apelin 后,该 Ang II 的诱导作用消失,这表明 Apelin-APJ 系统可能在血管疾病内源性调控 Ang II 信号通路中发挥重要的临床作用。普遍认为血管壁疾病的发生发展与 Ang II 对活性氧平衡的调节密切相关,而 NO 活性物减少和血管壁细胞中 O_2^- 增加导致的炎症被认为参与了血管疾病的发生发展。Chun 等^[9]的实验证实 Apelin 可增强血管壁 Akt 和 eNOS 的磷酸化,Apelin 促进 NO 的产生增加,清除 O_2^- ,调节血管壁活性氧平衡,最终阻断了 Ang II 诱导 As 的发生发展。APJ 与 ApoE 双敲除小鼠模型与 ApoE 敲除的小鼠模型对比,粥样硬化斑块明显增大。因此,Apelin 减轻血管壁的氧化应激,减少炎症反应,改善动脉粥样硬化进展。这些发现表明 Apelin 具有抗动脉粥样硬化的作用,其中确切的机制尚未完全阐明。这些结果与 Hashimoto 等^[15]的结论相违背,可能是因为这两项研究的实验设计存在

一些差异,不同的实验方法得出的结果明显不一致,并且两组实验动物模型的遗传背景也存在显著差异,也可能是由于 APJ 敲除小鼠 Apelin 信号缺失,Ang II 信号可能会发生代偿性下调。具体原因仍需后续更深入的研究证实。

3.2 Apelin 减少内皮细胞内活性氧产生和细胞衰老

衰老是心血管疾病的一个重要且独立的危险因素,参与了心血管系统结构和功能的改变,相关的内皮功能障碍在心血管疾病的发展中起着重要作用^[31]。有研究提示 Ang II 可能通过 PI3K/Akt/UCP2 信号通路诱导 HUVECs 衰老和凋亡,而 APJ 受体与血管紧张素 II 受体 I 型(AT1R)高度同源,都在心血管系统具有重要作用,Yang 等^[32]认为 Apelin/APJ 信号通路可能拮抗血管诱导的内皮细胞衰老。他们发现 Apelin 可以阻断 Ang II 诱导的内皮细胞衰老和细胞内 ROS 产生,实验结果证明 Apelin/APJ 通过激活 AMPK 磷酸化,调控增加 NAD 依赖性蛋白去乙酰化酶 sirtuin 1(SIRT1)表达,减少血管诱导的 HUVEC 的 ROS 的产生和细胞衰老,从而提高了细胞活力,起到抗动脉粥样硬化的作用。

3.3 Apelin 抑制巨噬细胞胆固醇蓄积

巨噬细胞和动脉粥样硬化的发生、发展密切相关,一方面它可以转化为泡沫细胞,并坏死形成脂质核,是粥样斑块的主要组成部分;另一方面巨噬细胞是粥样斑块中细胞成分的主要部分,其分泌的多种细胞因子等改变局部环境并影响斑块的稳定和疾病的发展。有研究者提出 Apelin 可影响腹腔内巨噬细胞功能^[33]。他们发现当巨噬细胞与 Apelin 孵育后,巨噬细胞的吞噬和趋化活性显著降低,且减少肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6(IL-6)的产生,且 APJ 受体拮抗剂 F13A 可阻断 Apelin 对巨噬细胞吞噬和趋化的抑制作用,也可抑制促炎性细胞因子的产生。他们认为 Apelin 可能是抑制巨噬细胞活化功能的中介物。Zhang 等^[34]同样发现 Apelin 可显著降低单核细胞中胆固醇、游离胆固醇和胆固醇酯的含量,同时抑制脂蛋白脂肪酶的表达,减少炎症因子分泌,如白细胞介素 6、白细胞介素 1 β 、TNF- α 。他们发现 Apelin 可通过 APJ-PKC α -MiR361 通路下调 LPL 的表达,抑制巨噬细胞转化为泡沫细胞,从而抑制脂质积累和炎性细胞的分泌。ABC 转运蛋白 A1(ATP-binding cassette A1, ABCA1)是反向胆固醇转运(Reverse cholesterol transport, RCT)的始动环节,介导细胞磷脂和胆固醇向无脂载脂蛋白 A-I(apoA-I)的外排,形成新生高密

度脂蛋白(HDL),抑制泡沫细胞的形成和动脉粥样硬化的发展^[35]。Liu等^[36]发现 Apelin-13 通过激活 PKC α (protein kinase C α) 通路磷酸化和稳定 ABCA1,并抑制钙蛋白酶活性及其介导的 ABCA1 的水解,从而增加 ABCA1 的表达和细胞胆固醇外排。这些结果表明,Apelin 可防止泡沫细胞的形成。

3.4 Apelin 稳定动脉粥样硬化斑块

Fraga-Silva 等^[37]通过研究 Apelin 对载脂蛋白 E 基因缺失小鼠模型中动脉粥样硬化斑块组成的影响,发现 Apelin-13 通过增加斑块内胶原含量和降低 MMP-9 表达,可以显著改善斑块稳定性。此外,Apelin-13 降低了炎症细胞(中性粒细胞和巨噬细胞)浸润和细胞内活性氧含量。Apelin-13 还可调控血脂,降低小鼠模型的血清总胆固醇、LDL 和游离脂肪酸水平,而血清 HDL、甘油三酯水平没有显著变化,改善 As 斑块稳定性。Apelin/APJ 系统的激活可增强动脉粥样硬化斑块的稳定性。

3.5 Apelin 调控机体脂代谢

脂代谢障碍是动脉粥样硬化的病变基础,有研究显示 Apelin 参与了机体脂代谢过程。Li 等^[38]研究发现持续的腹腔内注射 Apelin-13 可降低 2 型糖尿病 Goto-Kakizaki (GK) 大鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)水平,增加高密度脂蛋白胆固醇(HDL)水平,该过程可能是通过 GLUT4 和 p-AMPK α 2 发挥作用的。Chen 等^[39]通过观察 Apelin 对缺氧所致肺动脉高压 ApoE 基因敲除小鼠模型的影响,发现 Apelin 组的血浆高密度脂蛋白的浓度和高密度脂蛋白/低密度脂蛋白显著高于对照组,低密度脂蛋白受体(LDLR)、清道夫受体 B1、腺苷三磷酸结合盒转运体 A1 抗体的 mRNA 表达水平明显上调,而 HMG-CoA 还原酶(HMGCR) mRNA 水平明显减少,过氧化体增殖物激活型受体的表达明显上调。Bertrand 等^[40]同样发现 Apelin 对胰岛素抵抗小鼠的肝脏脂代谢有重要的调节作用,Apelin 可显著降低高脂饮食小鼠肝脏甘油三酯含量和脂质相关基因表达,同时 Apelin 处理小鼠的肝脏匀浆液中 β 氧化明显减少,且在分离的肝细胞中 Apelin 对脂代谢的作用无显著影响。因此,他们认为全身应用 Apelin 治疗可减少胰岛素抵抗小鼠的脂肪变性。由此可看出 Apelin 对脂代谢过程有显著的调控作用。

3.6 Apelin 介导 MicroRNAs 调控脂代谢

microRNAs 在动脉粥样硬化的发病机制中起重要作用。有研究报道,在 ApoE 敲除小鼠模型中,

miR-497 在动脉粥样硬化晚期病变中升高^[41]。该研究发现,经过氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)处理后,THP-1 巨噬细胞中 miR-497 表达上调。在 ox-LDL 暴露的 THP-1 巨噬细胞中,miR-497 的强制表达促进脂质积累,降低胆固醇外排。相反,miR-497 下调抑制了 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞的脂质积累。Apelin 被确定为 miR-497 的下游靶点。miR-497 过表达显著降低了 THP-1 巨噬细胞中 Apelin 的表达。有趣的是,在 miR-497 过表达 THP-1 的巨噬细胞中,表达一种耐 miR-497 的 Apelin 变异型显著抑制脂质积累并增强胆固醇外溢。该研究还发现,miR-497 在人动脉粥样硬化病变中表达增加,且与 Apelin 蛋白表达呈负相关^[41]。总之,miR-497 主要通过 Apelin 参与 ox-LDL 诱导的巨噬细胞内脂质沉积,因此是动脉粥样硬化的潜在治疗靶点。

3.7 Apelin 抑制血小板活化

血小板是血液中最小的成分。血小板是一种无核细胞,具有多种胞内细胞器,包括不同类型的分泌颗粒。从生理学上讲,血小板主要参与止血,以防止过度失血。然而,血小板功能异常,如血栓形成或出血,通常会导致严重和致命的后果。如血小板聚集导致许多血栓相关性疾病,其中包括动脉硬化(AS)。Adam 等^[42]报道,Apelin/APJ 受体在人类和小鼠血小板中具有表达,Apelin-13 可抑制低浓度凝血酶或胶原蛋白诱导的血小板聚集;此外,他们还发现,Apelin 敲除小鼠表现出血栓形成前的表型,止血时间缩短。在低浓度凝血酶或胶原的刺激下,从 Apelin 敲除小鼠分离的血小板聚集性显著增强。静脉注射 Apelin-13 可延长小鼠出血时间和预防血栓形成。这些数据表明,Apelin-13 直接参与血小板活化的调控。Apelin-13 抗血小板机制包括抑制整合素的 α II b β 3、抑制钙动员、刺激 cGMP 生产、抑制 TXA2 合成^[43]。Apelin 是一种天然的血小板活化抑制剂,在血小板的相互关联中起着重要作用,可能是一种更有效的抗凝血剂^[43]。因此,Apelin 及其衍生物对血栓相关性疾病可能具有高效的预防作用。

4 自噬

自噬是对细胞压力的一种进化反应,通过高度保守的溶酶体介导的蛋白和细胞器降解机制,维持细胞的稳态中起着至关重要的作用。本课题组在前期已经对 Apelin、自噬与血管功能及相关疾病的

关联做了综述^[8,44],总结了 Apelin 诱导自噬促进血管新生、血管炎症和血管钙化,同时介绍了血管内皮细胞、平滑肌细胞自噬、巨噬细胞自噬与动脉粥样硬化之间的关系。基础自噬与过度自噬对疾病的发生发展具有截然不同的作用。在人类和小鼠中的研究提示,细胞自噬能力会随着血管组织的老化而降低。内皮细胞老化与动脉粥样硬化的形成和发展有密切联系,这也暗示自噬可能参与了动脉粥样硬化的发生发展过程。

前文提到 Apelin 可提高细胞内胆固醇外排,减少细胞内脂质蓄积,抑制单核细胞转化为巨噬细胞。Yao 等^[45]研究进一步发现,Apelin-13 通过Ⅲ型 PI3K/Beclin-1 通路激活细胞自噬,降低泡沫细胞的脂质蓄积(图 3)。线粒体自噬可降低 ox-LDL 对平滑肌细胞的损伤,起到保护细胞作用。ApoE 敲除合并血管平滑肌细胞 Atg7 缺失的小鼠经过 10 周高脂饮食喂养,表现出斑块细胞死亡、炎症、纤维帽厚度和胶原含量增加,从而加速动脉粥样硬化斑块的形成^[46]。以上研究提示自噬被认为有抗动脉粥样硬化的作用,其通过促进细胞存活、处理 ox-LDL 和清除血栓前凋亡细胞。然而,过大压力和过度刺激的自噬可能导致血管细胞自噬死亡,导致斑块脆性增加(图 3)。而自噬抑制剂(3-MA、spautin-1、bafilomycin A1)也可阻断收缩蛋白的降解,防止 SMC 的恶性增殖和迁移。另外有文章报道,自噬参与调控 EC 的血管生成功能,Atg5 沉默或 3-MA 抑制自噬可减少血管管腔的形成和迁移,而 Atg5 过表达诱导自噬可促进血管生成,该过程可能是通过 ROS 的产生和 AKT 的激活介导自噬诱导的血管生成(图 3)。本课题组在细胞和动物水平均证实 Apelin-13 可通过 ROS-自噬途径促进单核细胞与内皮细胞黏附,诱导动脉粥样硬化斑块形成^[6](图 3)。自噬这些研究结果提示自噬可能诱导动脉粥样硬化。综上所述,Apelin 可诱导血管内皮细胞或血管平滑肌细胞发生自噬,而自噬可能在不同细胞状态具有不同的效果,具体的作用机制仍需要深入研究。

5 APJ 受体药物的研究现状

目前,APJ 受体激动剂和拮抗剂已被发现和合成,并在动物模型和患者中显示出一定的治疗效果。Elabela(又被称为 Apela, Toddler)是 2013 年新发现的 APJ 内源性配体,是一种内源性生长因子,同时具有趋化作用和多种心血管系统相关的作用^[47]。Iturrioz 等^[48]筛选出第一个非肽 APJ 受体激

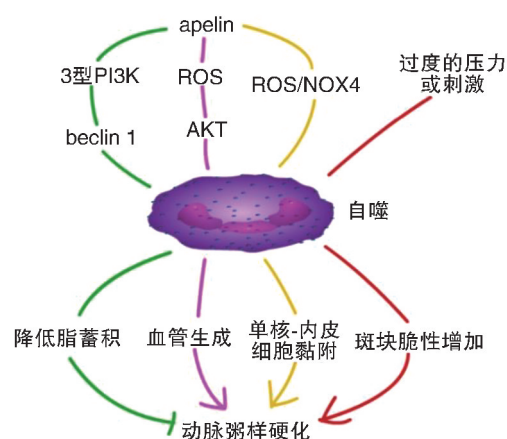


图 3. Apelin-自噬与动脉粥样硬化的关系

Figure 3. Relationship between Apelin- autophagy and atherosclerosis

动剂 E339-3D6(图 4)。随后又陆续发现并合成了 ML233、MM07、CMF019 等 APJ 激动剂^[49]。与此同时,APJ 拮抗剂的研究工作也在不断深入。Lee 等^[50]发现 APJ 的天然拮抗剂 F13A。Macaluso 等^[51]利用二价配体方法发现了一种新的 APJ 拮抗剂 MM54。此外,其他拮抗剂陆续被发现,如 ML221(图 4)和葛根素^[47]。值得一提的是,本课题组对以 APJ 受体为靶点的各种激动剂和拮抗剂进行了综述,包括多肽和小分子^[47]。关于 Apelin 激动剂和拮抗剂的研究还在继续,后续将会有更多的 APJ 药物被开发出来,这为以 Apelin/APJ 系统为靶点治疗预防或治疗动脉粥样硬化及其并发症提供了新的途径。

6 展望

Apelin/APJ 受体在机体多个组织有表达,广泛存在于血管平滑肌细胞和内皮细胞,参与血压稳态、血管形成及功能维持和调控、细胞增殖及炎症免疫的调控,与多种心血管疾病的发生发展有密切关系。关于 Apelin/APJ 受体与动脉粥样硬化的研究一直都是科研热点,前期研究显示 Apelin/APJ 受体与 Ang II/AT1 受体的序列及结构具有高度的相似性,但在动脉粥样硬化的研究中并未得到一致结论。一方面,Apelin/APJ 系统可通过 PI3K 信号通路促进平滑肌细胞、内皮细胞的增殖和迁移,诱导血管新生,增加 As 及 As 并发症的发生;另一方面 Apelin/APJ 系统可拮抗 Ang II,阻断 Ang II 诱导的内皮细胞衰老、ROS、炎症因子等的产生,从而抑制 As 的发生发展。本课题组推测 Apelin/APJ 系统在

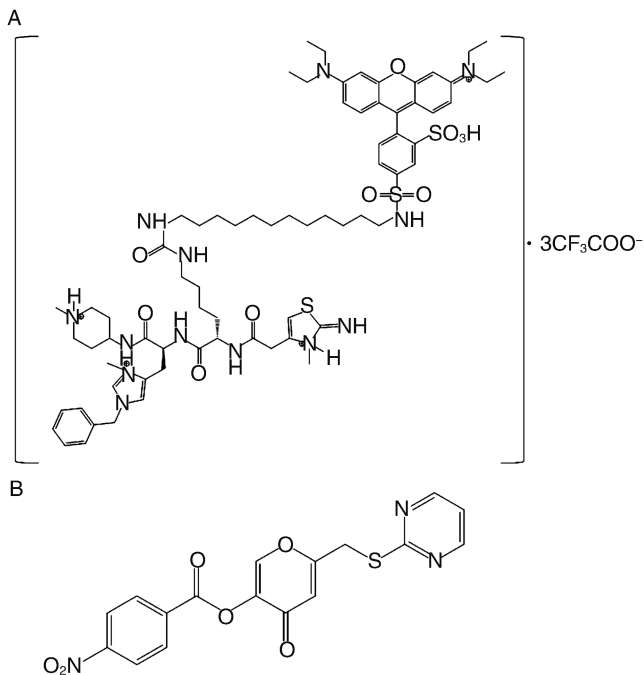


图4. APJ受体激动剂(E339-3D6)(A)和拮抗剂(ML221)(B)的化学结构

Figure 4. Chemical structures of APJ agonist (E339-3D6) (A) and antagonist (ML221) (B)

心血管系统中的作用可能与自噬类似,在As发生发展中可能具有双重作用,在非病理状态条件下,Apelin/APJ系统对心血管系统起一定的保护作用,但超过某个阈值后,Apelin/APJ系统的作用得到逆转,开始对心血管系统产生损伤效果,即促进了As的发生发展。当然实验模型、环境、方法、实验者、评价标准等,还有离体实验及机体的复杂性,这些都可能导致各研究结果不一致。动脉粥样硬化的发病机制及致病因素关系错综复杂,因此,本课题组必须继续探索Apelin对As发生发展确切作用机制,明确在不同病理状态下Apelin/APJ系统的作用,使其成为治疗及干预动脉粥样硬化的新靶点。

[参考文献]

- [1] 刘亚密, 曾召林, 陈姣姣, 等. microRNA 调节细胞自噬影响动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(12): 1278-1284.
- [2] O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11[J]. Gene, 1993, 136(1-2): 355-360.
- [3] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 251(2): 471-476.
- [4] Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, et al. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding[J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1538(2-3): 162-171.
- [5] Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, et al. International union of basic and clinical pharmacology. LXXIV. apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function[J]. Pharmacol Rev, 2010, 62(3): 331-342.
- [6] Liu M, Li H, Zhou Q, et al. ROS-autophagy pathway mediates monocytes-human umbilical vein endothelial cells adhesion induced by apelin-13[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(10): 6839-6850.
- [7] Lv D, Li H, Chen L. Apelin and APJ, a novel critical factor and therapeutic target for atherosclerosis[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2013, 45(7): 527-533.
- [8] 曹建刚, 李兰芳, 陈临溪. Apelin/APJ: 血管功能调节因子和药物治疗新靶点[J]. 生物化学与生物物理进展, 2015, 42(8): 721-732.
- [9] Chun HJ, Ali ZA, Kojima Y, et al. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis[J]. J Clin Invest, 2008, 118(10): 3343-3354.
- [10] Rittig K, Hildebrandt U, Thamer C, et al. Apelin serum levels are not associated with early atherosclerosis or fat distribution in young subjects with increased risk for type 2 diabetes[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2011, 119(6): 358-361.
- [11] 唐荣, 王睿苓, 敖翔, 等. 维持性血液透析患者血浆 apelin 水平与颈动脉粥样硬化的关系[J]. 中南大学学报(医学版), 2017, 42(6): 617-622.
- [12] Dogan I, Dogan T, Yetim M, et al. Relation of serum ADMA, apelin-13 and LOX-1 levels with inflammatory and echocardiographic parameters in hemodialysis patients[J]. Ther Apher Dial, 2018, 22(2): 109-117.
- [13] Karbek B, Bozkurt NC, Topaloglu O, et al. Relationship of vaspin and apelin levels with insulin resistance and atherosclerosis in metabolic syndrome[J]. Minerva Endocrinol, 2014, 39(2): 99-105.
- [14] Sabry RN, El-Wakeel MA, El-Kassas GM, et al. Serum apelin: a new marker of early atherosclerosis in children with type 1 diabetes mellitus[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2018, 6(4): 613-617.
- [15] Hashimoto T, Kihara M, Imai N, et al. Requirement of apelin-apelin receptor system for oxidative stress-linked atherosclerosis[J]. Am J Pathol, 2007, 171(5): 1705-1712.
- [16] Luo X, Liu J, Zhou H, et al. Apelin/APJ system: A critical regulator of vascular smooth muscle cell[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(7): 5180-5188.
- [17] He L, Zhou Q, Huang Z, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy promotes apelin-13-induced vascular smooth muscle cell proliferation by AMPK and exacerbates atherosclerotic lesions[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 8668-8682.
- [18] Eyries M, Siegfried G, Ciumas M, et al. Hypoxia-induced apelin expression regulates endothelial cell proliferation and regenerative angiogenesis[J]. Circ Res, 2008, 103(4): 432-440.
- [19] Zhang H, Gong Y, Wang Z, et al. Apelin inhibits the proliferation and migration of rat PASMCs via the activation of PI3K/Akt/mTOR signal and the inhibition of autophagy under hypoxia[J]. J Cell Mol Med, 2014, 18(3): 542-553.
- [20] Rudijanto A. The role of vascular smooth muscle cells on the path-

- ogenesis of atherosclerosis[J]. *Acta Med Indones*, 2007, 39(2): 86-93.
- [21] Liu QF, Yu HW, You L, et al. Apelin-13-induced proliferation and migration induced of rat vascular smooth muscle cells is mediated by the upregulation of Egr-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 439(2): 235-240.
- [22] Wang C, Wen J, Zhou Y, et al. Apelin induces vascular smooth muscle cells migration via a PI3K/Akt/FoxO3a/MMP-2 pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 69: 173-182.
- [23] Li X, Zhang X, Li F, et al. 14-3-3 mediates apelin-13-induced enhancement of adhesion of monocytes to human umbilical vein endothelial cells[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, 42(6): 403-409.
- [24] Lu Y, Zhu X, Liang GX, et al. Apelin-APJ induces ICAM-1, VCAM-1 and MCP-1 expression via NF-kappaB/JNK signal pathway in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Amino Acids*, 2012, 43(5): 2125-2136.
- [25] Berta J, Hoda MA, Laszlo V, et al. Apelin promotes lymphangiogenesis and lymph node metastasis[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(12): 4426-4437.
- [26] Kwon HB, Wang S, Helker CS, et al. In vivo modulation of endothelial polarization by Apelin receptor signalling[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11805.
- [27] Strohbach A, Pennewitz M, Glaubitz M, et al. The apelin receptor influences biomechanical and morphological properties of endothelial cells[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8): 6250-6261.
- [28] Jin HY, Chen LJ, Zhang ZZ, et al. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 exacerbates renal inflammation and injury in apolipoprotein E-deficient mice through modulation of the nephrin and TNF-alpha-TNFRSF1A signaling[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 255.
- [29] Loot AE, Schreiber JG, Fisslthaler B, et al. Angiotensin II impairs endothelial function via tyrosine phosphorylation of the endothelial nitric oxide synthase[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(13): 2889-2896.
- [30] Siddiquee K, Hampton J, McAnally D, et al. The apelin receptor inhibits the angiotensin II type 1 receptor via allosteric trans-inhibition[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(5): 1104-1117.
- [31] Virdis A, Ghiadoni L, Giannarelli C, et al. Endothelial dysfunction and vascular disease in later life[J]. *Maturitas*, 2010, 67(1): 20-24.
- [32] Yang R, Fang W, Liang J, et al. Apelin/APJ axis improves angiotensin II-induced endothelial cell senescence through AMPK/SIRT1 signaling pathway[J]. *Arch Med Sci*, 2018, 14(4): 725-734.
- [33] Izgut-Uysal VN, Gemici B, Birsan I, et al. The effect of apelin on the functions of peritoneal macrophages[J]. *Physiol Res*, 2017, 66(3): 489-496.
- [34] Zhang X, Ye Q, Gong D, et al. Apelin-13 inhibits lipoprotein lipase expression via the APJ/PKCalpha/miR-361-5p signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2017, 49(6): 530-540.
- [35] Zhou X, Yin Z, Guo X, et al. Inhibition of ERK1/2 and activation of liver X receptor synergistically induce macrophage ABCA1 expression and cholesterol efflux[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(9): 6316-6326.
- [36] Liu XY, Lu Q, Ouyang XP, et al. Apelin-13 increases expression of ATP-binding cassette transporter A1 via activating protein kinase C alpha signaling in THP-1 macrophage-derived foam cells[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226(2): 398-407.
- [37] Fraga-Silva RA, Seeman H, Montecucco F, et al. Apelin-13 treatment enhances the stability of atherosclerotic plaques[J]. *Eur J Clin Invest*, 2018, 48(3). doi: 10.1111/eci.12891.
- [38] Li M, Fang H, Hu J. Apelin13 ameliorates metabolic and cardiovascular disorders in a rat model of type 2 diabetes with a highfat diet[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6): 5784-5790.
- [39] 陈然, 江璞, 刘玲燕, 等. Apelin对改善小鼠低氧性肺动脉高压的作用及与调节脂质代谢的关系[J]. *中国应用生理学杂志*, 2017, 33(6): 493-496, 567.
- [40] Bertrand C, Pradere JP, Geoffre N, et al. Chronic apelin treatment improves hepatic lipid metabolism in obese and insulin-resistant mice by an indirect mechanism[J]. *Endocrine*, 2018, 60(1): 112-121.
- [41] Yu XH, Tang ZB, Liu LJ, et al. Apelin and its receptor APJ in cardiovascular diseases[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 428: 1-8.
- [42] Adam F, Khatib AM, Lopez JJ, et al. Apelin: an antithrombotic factor that inhibits platelet function[J]. *Blood*, 2016, 127(7): 908-920.
- [43] Li L, Xu J, Chen L, et al. Apelin/APJ system: a novel promising therapy target for thrombotic diseases[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2016, 48(6): 589-591.
- [44] 肖凌, 李兰芳, 陈临溪. 自噬对血管功能的影响及与相关疾病的关联研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2013, 40(12): 1177-1185.
- [45] Yao F, Lv YC, Zhang M, et al. Apelin-13 impedes foam cell formation by activating Class III PI3K/Beclin-1-mediated autophagic pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 466(4): 637-643.
- [46] Mialeto-Perez J, Vindis C. Autophagy in health and disease: focus on the cardiovascular system[J]. *Essays Biochem*, 2017, 61(6): 721-732.
- [47] Huang Z, He L, Chen Z, et al. Targeting drugs to APJ receptor: From signaling to pathophysiological effects[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(1): 61-74.
- [48] Iturrioz X, Alvear-Perez R, De Mota N, et al. Identification and pharmacological properties of E339-3D6, the first nonpeptidic apelin receptor agonist[J]. *FASEB J*, 2010, 24(5): 1506-1517.
- [49] Cheng J, Luo X, Huang Z, et al. Apelin/APJ system: a potential therapeutic target for endothelial dysfunction-related diseases[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(8): 12149-12160.
- [50] Lee DK, Saldivia VR, Nguyen T, et al. Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(1): 231-236.
- [51] Macaluso NJ, Pitkin SL, Maguire JJ, et al. Discovery of a competitive apelin receptor (APJ) antagonist[J]. *Chem Med Chem*, 2011, 6(6): 1017-1023.