

Apelin/APJ 系统在心肌缺血-再灌注损伤中的保护作用

曾俊中 田国平

【摘要】 急性心肌梗死再灌注时可出现缺血-再灌注(I/R)损伤,导致心肌细胞坏死、凋亡和细胞功能障碍。Apelin 是血管紧张素 II 1 型受体(AT1R)相关蛋白(APJ)的内源性配体。Apelin/APJ 系统在心血管系统中表达丰富。研究表明,Apelin 可以限制梗死心肌面积和改善心力衰竭导致的心脏机械功能受损,有望成为治疗缺血性心肌损伤的新方法。

【关键词】 Apelin;缺血-再灌注损伤;缺血挛缩;氧化应激;细胞凋亡

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.01.010

血管紧张素 II 1 型受体(AT1R)相关蛋白(APJ)是一种有 7 个跨膜域、由 377 个氨基酸组成的跨膜蛋白,它属于孤儿 G 蛋白偶联受体^[1]。Tatemoto 等^[2]于 1998 年首次分离出 APJ 的天然配体,即内源性活性多肽 Apelin。Apelin/APJ 系统广泛存在于胃肠道、脂肪、脑、肝、肾、骨骼肌、心脏、血管和肺组织^[3]。在心血管系统中,APJ 受体主要分布在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和心肌细胞中,Apelin 主要由血管内皮细胞分泌产生^[4]。研究发现,Apelin/APJ 系统具有扩张血管、降低血压、增加心肌收缩力、抑制心肌细胞肥大及凋亡、促进血管生成等作用,它与心肌梗死后缺血-再灌注(I/R)损伤密切相关。本文就 Apelin/APJ 系统在 I/R 损伤中的心肌保护作用作一介绍。

1 Apelin/APJ 的分子生物学特性

Apelin 基因定位于人类 X 染色体的 q25~26.1 段,Apelin cDNA 通过激活其 C-端区域序列编码含 77 个氨基酸的前体肽原^[5],有多个潜在的翻译后加工蛋白酶切位点,可水解生成不同的活性肽段 Apelin-12、-13、-16、-17、-19、-36^[6]。其中少于 12 个氨基酸的肽段是没有生物活性的。目前研究最多的是 Apelin-13、-36,其中 Apelin-13 在心血管系统中活性最强,可提高细胞外磷酸化效能及单核细胞-血管内皮细胞黏附作用^[7]。

APJ 受体基因定位于人染色体 11q12.1 段,是由 380 个氨基酸组成的 G 蛋白偶联受体(GPCR)家族中的一员,位于其疏水性跨膜区中的氨基酸有 31%与 AT1R 相同,但这种相似性不足以使血管紧张素 II 与 APJ 受体结合,表明了配体与受体之间存

在高度特异性。Apelin/APJ 系统作用于 AT1R,发挥对血管紧张素 II 的拮抗作用^[8]。

2 I/R 损伤

急性心肌梗死再灌注时可出现 I/R 损伤,在 I/R 损伤中最重要的病理生理改变是细胞内钙离子(Ca^{2+})稳态失衡、活性氧释放、心脏短暂机械功能障碍或心肌顿抑、心肌细胞凋亡和坏死。

受损区域心肌细胞的强烈挛缩在肌纤维膜的破裂和细胞死亡中起着关键性作用^[9]。研究表明,氧化应激和 Ca^{2+} 超载可以诱导线粒体通透性转换孔(MPTP)突然开放,促使心肌细胞挛缩^[10]。在再灌注的早期,MPTP 的开放是再灌注损伤(及细胞死亡)从可逆向不可逆转的关键步骤,可导致活性氧(ROS)产生、线粒体肿胀、线粒体氧化磷酸化解偶联,引起心肌细胞坏死和凋亡^[11]。 Ca^{2+} 超载可激活钠离子(Na^{+})/氢离子(H^{+})转运蛋白(NHE)及 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ 转运蛋白(NCE),促使细胞挛缩和 MPTP 的开放,导致细胞死亡^[12]。ROS 在 I/R 损伤中发挥重要作用,它可以修饰和灭活蛋白质、脂类、DNA、RNA,导致细胞功能障碍。黄嘌呤氧化酶(XO)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX)的激活可引起超氧阴离子(O_2^{-})生成,导致心肌细胞损伤。心肌细胞在经历缺氧和复氧(H/R)后,超氧化物歧化酶(SOD)可以将 O_2^{-} 转化成过氧化氢(H_2O_2),减少自由基,但当大量的 ROS 产生时,内源性抗氧化系统不足以对心肌起到保护作用。 Ca^{2+} 超载时,ROS 引起的体外脂质过氧化作用会导致心肌细胞严重损伤,且脂质过氧化反应的产物 4-羟基-2-壬烯醛(HNE)可促进 Ca^{2+} 超载,进一步加重心肌细胞损伤。ROS 引起的氧化应激可直接导致收缩蛋白的氧化修饰,或造成 Ca^{2+} 超载,间接引起细胞损伤^[13]。既往研究表明,急性心肌梗

死中心区域主要表现为坏死,周边区域则以凋亡为主,还包括少量的自体吞噬。再灌注治疗可减少心肌坏死,却不能抑制心肌细胞凋亡,I/R损伤反而可能加重细胞凋亡,扩大梗死面积。

3 Apelin 在 I/R 损伤中的保护作用机制

3.1 正性肌力和舒张血管作用

Apelin 具有改善心肌收缩力、舒张血管的作用。Wang 等^[14]研究发现,Apelin 在改善心肌收缩力方面具有剂量依赖性,且作用平缓、持久。Apelin 的正性肌力作用可能是由于磷脂酶 C(PLC)的激活和 1,4,5-三磷酸肌醇(IP3)及二酰甘油(DAG)的生成。IP3 与 IP3 受体(IP3R)结合,促使肌浆网中 Ca^{2+} 释放;DAG 通过蛋白激酶 C(PKC)磷酸化,激活 NHE,继而引起细胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} 水平增加^[15]。同时,由 Ca^{2+} 介导的 Ca^{2+} 释放通道雷尼丁受体(RyR)开放也可使细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,影响心肌收缩力。此外,NHE 引起细胞内环境碱化,可增加肌丝结构对 Ca^{2+} 的敏感性,从而进一步增强心肌收缩力^[16]。

Apelin 舒张血管的作用是通过内皮细胞释放一氧化氮(NO)来完成的。Apelin 与血管内皮细胞上的 APJ 受体结合,通过磷脂酰肌醇 3-激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶(PI3K-Akt)途径激活内皮型一氧化氮合酶(eNOS),促使 NO 生成。Apelin 也可通过 PLC-DAG-IP3 信号转导通路引起细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,激活 eNOS 生成 NO^[17],继而扩张血管。当血管内皮细胞功能障碍时,由于不能产生 NO,Apelin 与平滑肌细胞上 APJ 受体结合将引起血管平滑肌收缩。这一效应是通过细胞内 Ca^{2+} 浓度增加和 PLC-DAG-IP3 通路引起的肌球蛋白轻链磷酸化介导产生的。细胞内 Ca^{2+} 浓度增加可能是由于肌浆网中 IP3R 开放,通过 RyR 引起 Ca^{2+} 释放所致。

3.2 抗缺血性挛缩

在 I/R 损伤中,细胞内 Ca^{2+} 超载及三磷酸腺苷(ATP)耗竭可导致心肌细胞缺血性挛缩坏死,抑制细胞内 Ca^{2+} 超载可以状态改善缺血性挛缩坏死。研究表明,Apelin 能够降低 I/R 损伤中心肌挛缩峰值,延迟缺血性挛缩发生的时间。目前,Apelin 改善心肌缺血性挛缩的确切机制尚不明确,可能与细胞内 Ca^{2+} 浓度的调节及对 ATP 的影响有关。肌浆网上 Ca^{2+} 通道开放,细胞膜 NHE-NCE 系统激活,导致细胞内 Ca^{2+} 浓度增加。Apelin 可在 NO 的介导下增强内质网 Ca^{2+} -ATP 酶(SERCA)的活性,促使 Ca^{2+} 向肌浆网内流,改善心肌舒张功能。该效应比肌浆网对 Ca^{2+} 的吸收和释放速度更快^[18],这也解释了为什么 Apelin 可降低细胞内 Ca^{2+} 超载,并改善缺血后心肌

的机械功能。研究发现,在离体大鼠心脏 I/R 损伤前使用 Apelin 处理能够减轻 ATP 耗竭,延迟缺血挛缩的发生。缺血挛缩的机制与组织 ATP 减少有关,且上述效应能被糖酵解产生的 ATP 缓解。这表明外源性 Apelin 可能通过刺激丙酮酸盐转换成丙氨酸,增加糖酵解,从而增加 ATP 含量。进一步研究发现,缺血后期经 Apelin 处理的离体心脏中丙氨酸水平并未升高,说明 Apelin 并不能持续作用于心脏缺血挛缩的全过程,这可能是受组织氧化还原状态的影响所致^[19]。

3.3 抗氧化应激

对大鼠心肌 I/R 损伤及离体心肌 H/R 损伤进行的研究表明,Apelin 具有限制氧化应激的作用。Zeng 等^[20]发现,在离体心肌细胞发生 H/R 损伤时,超氧化物荧光反应(用于检测 O_2^- 浓度)呈阳性的细胞比例增加;而在缺血性损伤前 30 min 给予 Apelin 可明显减少阳性细胞比例。再灌注过程中,大量的 O_2^- 被内皮细胞、中性粒细胞及心肌细胞释放,Apelin 可增强 SOD 的活性,清除 O_2^- ,抑制氧化应激反应。在再灌注后期,Apelin 可通过再灌注性补救激酶(RISK)途径激活 eNOS,促使 NO 释放;而 NO 可使中性粒细胞 NADPH-OX 失活,抑制 O_2^- 产生^[21]。Apelin 可能通过激活 SOD 促使 NO 释放,从而对抗氧化应激。

3.4 抗凋亡

目前凋亡的细胞内信号转导机制已明确,即凋亡是一种受基因调控的、具有能量依赖性的细胞主动死亡的过程。细胞内外的各种凋亡诱导因素(如缺血、缺氧、氧化应激、酸中毒刺激等)作用于细胞后,通过外源性的死亡受体途径或内源性的线粒体途径促进细胞凋亡的发生。I/R 损伤的机制之一是细胞凋亡触发后数小时内发生的心肌细胞死亡。研究发现,在小鼠和人类成骨细胞、大鼠心肌细胞及大鼠神经细胞中,Apelin 均具有抗细胞凋亡作用。Apelin 可激活 PI3K-Akt 途径,通过磷酸化多种转录因子,抑制凋亡基因的表达而增强抗凋亡基因的表达。在大鼠心肌细胞和神经细胞中发现的细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)途径也可抑制凋亡蛋白 BAD/BAX,发挥抗凋亡作用。

4 外源性 Apelin 应用时机

研究发现,在长时间缺血前后给予阿片类、腺苷、西地那非、鞘氨醇、缓激肽等可以对抗 I/R 损伤,并起到保护心肌的作用^[23]。然而,Apelin 只有在心肌缺血之后应用才有效。

APJ 受体和 Apelin 的表达水平在心肌缺血的

后期和再灌注过程中都会发生变化。Kleinz 等^[24]发现,在离体大鼠心脏中,冠状动脉闭塞 35 min 后、再灌注 30 min 后,Apelin mRNA 的表达均显著上调,而 APJ mRNA 表达虽有上调趋势,但未达统计学意义。该研究组在大鼠心肌广泛缺血 40 min 时给予再灌注处理,30 min 后发现 APJ mRNA 的表达水平上调 8 倍而 APJ 蛋白表达水平上调 41%。

有研究者认为,缺血心肌只有在得到再灌注后,内源性分泌的活性肽 Apelin 才能发挥作用,因而在再灌注的早期给予 Apelin 才能发挥心肌保护作用,但这一观点尚存在争议。

5 结语

Apelin/APJ 系统在 I/R 损伤中发挥了对抗细胞挛缩、氧化应激、细胞凋亡以及改善心脏机械功能的重要作用。在心肌梗死的再灌注治疗中,Apelin 可能具有潜在的临床应用价值。

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Tatamoto 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.
- [3] O'Carroll AM, Lolait SJ, Harris LE, et al. The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis[J]. *J Endocrinol*, 2013, 219(1): R13-R35.
- [4] Galanth C, Hus-Citharel A, Li B, et al. Apelin in the control of body fluid homeostasis and cardiovascular functions[J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(6): 789-798.
- [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] 黄 珍,郭晓玲. Apelin/APJ 系统与心血管系统相关性研究进展[J]. *心血管病防治知识*, 2013, 12(8): 87-91.
- [7] 张 普,刘铭雅,朱 伟,等. Apelin 经 Akt/AMPK 信号通路促进心肌微血管内皮细胞血管生成[J]. *国际心血管病杂志*, 2013, 40(1): 44-48.
- [8] Sato T, Suzuki T, Watanabe H, et al. Apelin is a positive regulator of ACE2 in failing hearts[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(12): 5203-5211.
- [9] Rastaldo R, Cappello S, Folino A, et al. Low concentrations of an nitric oxide-donor combined with a liposoluble antioxidant compound enhance protection against reperfusion injury in isolated rat hearts[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2010, 61(1): 21-27.
- [10] Lishmanov YB, Naryzhnaya NV, Maslov LN, et al. Functional

- state of myocardial mitochondria in ischemia reperfusion of the heart in rats adapted to hypoxia[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2014, 156(5): 645-648.
- [11] Zhang R, Ran HH, Cai LL, et al. Simulated microgravity-induced mitochondrial dysfunction in rat cerebral arteries[J]. *FASEB J*, 2014, 28(6): 2715-2724.
- [12] Di Stilo A, Chegaev K, Lazzarato L, et al. Effects of nitric oxide donor antioxidants containing the phenol vitamin E substructure and a furoxan moiety on ischemia/reperfusion injury[J]. *Arzneimittelforschung*, 2009, 59(3): 111-116.
- [13] Nakamura K, Miura D, Kusano KF, et al. 4-Hydroxy-2-nonenal induces calcium overload via the generation of reactive oxygen species in isolated rat cardiac myocytes[J]. *J Card Fail*, 2009, 15(8): 709-716.
- [14] Wang M, Gupta RC, Rastogi S, et al. Effects of acute intravenous infusion of apelin on left ventricular function in dogs with advanced heart failure [J]. *J Card Fail*, 2013, 19(7): 509-516.
- [15] 邓 琳,周宇宏,乔国芬. Apelin/APJ 系统心血管保护作用的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2013, 10(30): 35-38.
- [16] Perjés Á, Skoumal R, Tenhunen O, et al. Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C ϵ - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93473.
- [17] Yang X, Zhu W, Zhang P, et al. Apelin-13 stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in myocardial microvascular endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(5): 1590-1596.
- [18] Modgil A, Guo L, O'Rourke ST, et al. Apelin-13 inhibits large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels in cerebral artery smooth muscle cells via a PI3-kinase dependent mechanism[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83051.
- [19] 刘 楠. Apelin 对缺血-再灌注损伤导致的心脏功能障碍的保护作用及机制研究[D]. 西安:第四军医大学, 2013.
- [20] Zeng XJ, Zhang LK, Wang HX, et al. Apelin protects heart against ischemia/reperfusion injury in rat [J]. *Peptides*, 2009, 30(6): 1144-1152.
- [21] 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.
- [22] Zeng XJ, Yu SP, Zhang L, et al. Neuroprotective effect of the endogenous neural peptide apelin in cultured mouse cortical neurons [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(11): 1773-1783.
- [23] Sadigh B, Shahgaldi K, Sylvén C, et al. Preconditioning effects of adenosine in patients with severe coronary artery disease but preserved coronary flow reserve[J]. *Coron Artery Dis*, 2009, 20(5): 354-359.
- [24] Kleinz MJ, Baxter GF. Apelin reduces myocardial reperfusion injury independently of PI3K/Akt and P70S6 kinase [J]. *Regul Pept*, 2008, 146(1-3): 271-277.

(收稿:2014-07-24 修回:2014-09-14)

(本文编辑:孙 雯)