

Apelin-13 在脑血管病中神经保护作用的研究进展

白超博 董晓宇 佺剑非

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2017)04-0375-04
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.04.028

1 背景

脑血管疾病(cerebrovascular disease, CVD)是指脑血管由于血栓形成或者破裂出血引起的以脑部缺血性或者出血性损伤,造成神经功能缺损症状为主要临床表现的一组疾病。CVD 是神经系统的常见及多发病,是造成人类死亡和残疾的三大疾病之一。在脑血管疾病中缺血性脑血管病占比例较大,严重危害人类健康^[1-4]。据不完全统计我国 CVD 病死率已达 120 人/10 万,在幸存者中大约 3/4 的人留下偏瘫、失语等后遗症,部分患者丧失劳动能力和生活自理能力,严重威胁我国居民的身体健康^[5]。

脑血管闭塞继而再通伴随着一系列的病理生理事件,包括缺血期间 ATP 耗竭、乳酸堆积、酸中毒、再灌注期间的活性氧的产生等。因此,对于缺血-再灌注损伤机制的深入研究能够为脑卒中的临床治疗提供新的理论依据。有研究发现 Apelin-13 能对抗兴奋性毒性和氧化应激等对神经细胞的损伤以及抑制神经细胞的凋亡,具有神经保护作用,是一种新型的神经保护因子^[6-7]。

2 Apelin-13 的生物学特性

1993 年 O'Dowd 等^[8]在人类基因中识别出一种血管紧张素受体 AT1 相关的 G 蛋白偶联受体(putative receptor protein related to the angiotensin receptor AT 1, APJ)。Apelin 是由 Tatamoto 等在 1998 年从牛的胃分泌物中提取出来的一种多肽^[9],是目前已知的 APJ 唯一的内源性配体。

人类的 apelin 基因位于染色体 Xq25~26.1,分子量为 12876,含有 3 个外显子和 2 个内含子,mRNA 由 3125 个碱基对组成^[10],编码含有 77 个氨基酸的 Apelin 前肽,Apelin 前肽在不同物种之间具有高度同源性^[11]。Apelin 前肽的氨基端为氨基酸的信号肽序列,而其羧基端为含有具有生物活性的序列及与 APJ 受体特异性结合的区域。Apelin 前肽在蛋白酶水解酶的作用下分解为有生物学活性的 Apelin 片段,主要包括有 Apelin 36, Apelin 17, Apelin 16, Apelin 13, Apelin 12 等^[12]。不同长度的 Apelin 多肽片段在体内的分布情况以及 APJ 的结合能力均不尽相同,因此在体内发挥的生理与药理作用也不同^[13]。其中,Apelin-13 在神经系

统的表达水平较高,与神经系统关系密切^[14]。

Apelin 分布于人体的多个器官、组织和细胞中包括中枢神经系统、肺脏、肾脏、心脏、乳腺、胎盘、血管内皮细胞和心内膜细胞等。在神经系统中 Apelin/APJ 系统在神经元和少突胶质细胞中有大量表达,而在星形胶质细胞中表达水平较低。在神经元的突触和胞体中 Apelin/APJ 系统均有表达,而突触的表达水平相对较低^[15-16]。APJ 和其配体 Apelin 在神经系统中的许多区域均大量表达。Apelin/APJ 表达的区域包括端脑外侧中隔核、杏仁核、纹状核等。在中脑导水管周围的中央灰质、脑桥的被盖网状核、延髓的外侧网状核等区域也均有表达^[17-18]。Apelin 具有促进血管生成、降低血压、增强心肌收缩力、调节水盐平衡、促进垂体激素释放及调节免疫等多种生物学效应^[19]。目前对于 apelin-13 的脑缺血-再灌注动物模型的研究发现,apelin-13 具有对抗兴奋性毒性、抑制神经细胞的凋亡、对抗氧化应激等作用,因而被认为具有神经保护作用。

3 Apelin-13 的神经保护作用

3.1 对抗氨基酸兴奋性毒性

兴奋性氨基酸主要包括天冬氨酸、谷氨酸和甘氨酸,其属于兴奋性神经递质,主要分布于中枢神经系统神经元的突触末梢。大脑在缺血后释放的兴奋性氨基酸主要为谷氨酸,与其突触后膜上的兴奋性氨基酸受体结合,产生神经毒性造成神经元损伤^[20]。神经细胞中富含 N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA),能介导谷氨酸等兴奋性氨基酸的毒性。谷氨酸激活 NMDA 受体,刺激 Ca^{2+} 通道,促使大量 Ca^{2+} 内流,导致缺血早期细胞内的 Ca^{2+} 超载,是兴奋性毒性损伤的机制之一,可造成细胞死亡。Cook 等人证实 apelin-13 通过直接减少 NMDA 受体膜的离子流电位来降低 NMDA 的活性,剂量依赖的 apelin-13 通过影响 Ca^{2+} , IP3, PKC, MEK-1/2 及 ERK-1/2 信号通路的磷酸化来对抗谷氨酸盐的兴奋性毒性作用,进而对大脑皮质神经元起到保护作用。Cook 等的研究也发现 Apelin-13 能抵抗谷氨酸或 HIV 诱导的大脑皮质神经元兴奋性毒性损伤,促进神经元存活,其机制可能是通过活化 IP3, PKC, MEK1/2 及 ERK 1/2 信号通路,调节 NMDA 受体的 NR2B 亚单位的 1480 丝氨酸的磷酸化,减少神经细胞内 Ca^{2+} 积聚,降低钙蛋白酶活化而保护大脑皮质神经细胞^[21]。在 O

Donnell 等人研究的 HIV 神经毒性模型中他们发现 HIV 感染的人单核细胞来源的巨噬细胞释放的兴奋性神经毒性物质可将海马细胞杀死。其原因与海马富含 NMDAR-2A 及 NMDAR-2B 亚单位有关, HIV 感染的单核细胞来源的巨噬细胞可通过激活 NMDA 受体导致神经元死亡。NMDA 受体拮抗剂可对抗 HIV 感染的单核细胞来源的巨噬细胞的兴奋毒性作用,因而具有神经保护作用。在此模型的研究基础上他们进一步研究比较单独或联合 apelin-13 及 apelin-36 预处理的海马细胞和由 apelin-17 竞争肽或牛血清白蛋白预处理的海马细胞,发现海马细胞的存活率由 25% 上升至 50% ~ 75%, 这提示 apelin-13 通过对抗兴奋性毒性损害来起到神经保护作用。其神经保护作用与 apelin-13 激活 AKT 及 ERK-1/2 有关^[22-23]。

3.2 抑制细胞凋亡

细胞凋亡是细胞对环境的病理性刺激信号、环境条件的变化或缓和性损伤产生的应答有序变化的死亡过程。杨毅等通过选用成年雄性 CD-1 小鼠作为研究对象,采用改良线栓法制备大脑中动脉闭塞再灌注模型,观察 apelin-13 对脑缺血-再灌注小鼠的神经保护作用,发现其可减轻鼠脑缺血-再灌注后神经功能缺损以及脑水肿,减小梗死体积,并上调 Bcl-2、下调 Bax、caspase-3 的表达,从而抑制神经细胞凋亡。由此得出结论, apelin-13 对小鼠脑缺血-再灌注损伤具有神经保护作用,对抗细胞凋亡是其作用靶点之一^[24]。

AMP 激活的蛋白激酶 (AMPK) 是主要的能量感受器,可以控制核心能量代谢产物的水平,在脑缺血-再灌注过程中 AMPK 通过 AMPK α Thr172 的磷酸化激活并产生神经保护效应。Yang 等人通过研究 apelin-13 在缺血性脑卒中的抗凋亡机制中发现, apelin-13 可显著增加 p-AMPK α 在缺血-再灌注后的磷酸化水平,从而激活 AMPK,抑制细胞凋亡。其机制与 apelin-13 影响与 AMPK 有联系的某些信号有关,如 apelin-13 可下调 Bax 及 caspase-3,上调 Bcl2,从而产生神经保护作用^[25]。

3.3 对抗炎症反应

炎症反应是脑缺血-再灌注损伤的主要病理生理机制之一。有研究表明,脑缺血-再灌注损伤在促进氧自由基产生的同时也触发了一系列的炎症级联反应,导致炎症细胞浸润及炎症因子的大量释放。大量炎症因子的释放可刺激花生四烯酸的代谢,加重氧化应激损伤,导致神经元的凋亡^[26]。氧化应激是引起脑缺血-再灌注损伤的重要机制。氧化应激是指机体在遭受有害刺激时产生了大量的活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS),超出了机体对其清除能力,从而对细胞的 DNA、蛋白质和脂质等造成巨大的损伤^[27]。Zhuge 等人^[28]研究发现无血清培养基培养 (血清剥夺) 联合 CYP2E1 的表达会导致活性氧的产生,进一步可导致下游的细胞凋亡及细胞坏死。超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase, SOD) 是体内主要抗氧化应激的酶, SOD 的缺失可导致神经系统的损伤。Zeng 等通过研究 apelin-13 在无血清

培养基培养 (血清剥夺) 的原代大脑皮质细胞中的作用发现,经过 Apelin-13 预处理能够减少血清剥夺诱导的 ROS 的产生、线粒体膜电位去极化、细胞色素 C 的释放以及 caspase-3 的激活。此外, Apelin-13 可改变血清剥夺诱导的小鼠皮质神经细胞中 Akt、ERK-1/2 通路的磷酸化水平, apelin-13 可减少 Akt 的磷酸化水平并增加 ERK-1/2 的磷酸化水平。Apelin-13 还能显著减少 NMDA 介导的细胞内 Ca^{2+} 积聚,防止细胞内 Ca^{2+} 超载。这些结果表明 Apelin-13 作为一个内源性的神经保护因子,可以通过细胞及分子机制阻止细胞凋亡及兴奋性毒性作用^[29]。Xin 等人的研究发现经 Apelin-13 处理的脑缺血-再灌注大鼠, Apelin-13 能够明显改善大鼠的神经功能缺损,减小梗死体积。其机制与减少炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1 表达有关^[30]。Huang 等人在研究 apelin-13 在缺血性神经血管单元损伤中的作用以及其是否独立作用于血管生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 中通过测定 apelin-13 注射诱导的大脑中动脉栓塞动物模型中的 VEGF 及其受体在 1、3、7、14 天的表达,发现 apelin-13 可显著增加 VEGF 及其受体 (VEGFR-2) 的表达,其作用机制可能与 apelin-13 促进血管生成、减少神经元的死亡及星形胶质细胞的激活有关,达到改善神经系统功能的作用。他们进一步研究相关信号传导通路发现, apelin-13 可抑制细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 拮抗剂 U0126 以及磷脂酰肌醇激酶-3 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 抑制剂 LY294002,其神经保护作用可能与激活 ERK 及 PI3K/Akt 通路有关^[31]。Kalan-taripour 等人评估 apelin-13 在戊四唑诱导的大鼠癫痫模型中的效应发现,通过比较 apelin-13 预处理组, apelin-13 与 apelin 受体拮抗剂预处理组, apelin-13 与纳洛酮预处理组,接受戊四唑处理的对照组,发现相对于对照组, apelin-13 预处理组可显著控制癫痫发作阈值和强直阵挛发作;组织学及免疫组化研究进一步发现 apelin-13 可通过对抗戊四唑诱导的神经炎症反应及细胞凋亡,起到保护皮层神经元的作用^[32]。

4 与脑血管病预后的关系

张学敏等通过研究 50 例急性脑梗死患者不同时期的 Apelin-13 水平,发现 Apelin-13 在发病第 1 d 下降,后随着病程进展, Apelin-13 水平逐渐升高,且预后良好组 Apelin-13 数值较预后不良组 Apelin-13 数值高,急性脑梗死患者发病时 Apelin-13 下降可能与其表达减少有关,提示 Apelin-13 具有神经保护作用,具体机制有待进一步研究^[33]。Khaksari 等通过对大脑中动脉闭塞模型小鼠的侧脑室注射不同剂量的 Apelin-13,发现注射 50 ug 及 100 ug Apelin-13 能分别减小梗死体积的 45% 及 55%,而注射低剂量的 Apelin-13 (25 ug) 则不能减小梗死体积^[34]。Bao 等人通过研究 apelin-13 在脑出血大鼠模型的神经保护作用发现,发生脑出血的大鼠在立即接受 apelin-13 处理后大鼠的运动功能得到显著改

善,AQP-4、MMP-9、caspase-3、Bcl-2 在脑出血 24 h 及 48 h 后表达下调,表明 apelin-13 可通过抑制细胞凋亡、减小脑水肿、减少细胞死亡等途径来达到神经保护作用^[35]。

5 展 望

近年来对于神经保护剂的研究,一些天然的或者合成的物质逐渐被发现并被证实对于脑血管病引起的损伤有保护作用。综上所述,apelin-13 与脑血管病关系密切,在对抗兴奋性毒性、氧化应激以及抑制神经细胞的凋亡中发挥神经保护作用,其具体作用机制有待于进一步研究。随着 apelin-13 与脑血管病研究的深入,其将会为脑血管病的治疗提供新的依据。

参 考 文 献

- [1] Chutinet A, Rost NS. White matter disease as a biomarker for long-term cerebrovascular disease and dementia[J]. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2014, 16(3): 292.
- [2] Gouya GJ, Wolzt M. Antiplatelet treatment for prevention of cerebrovascular events in patients with vascular diseases: a systematic review and meta-analysis[J]. *Stroke*, 2014, 45(2): 492-503.
- [3] Lee PN, Fry JS, Thornton AJ. Estimating the decline in excess risk of cerebrovascular disease following quitting smoking-A systematic review based on the negative exponential model[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2014, 68(1): 85-95.
- [4] Goltz L, Bodechtel U, Siepmann T. Statins and ASS for primary prevention of cardiovascular and cerebrovascular disease[J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2014, 139(6): 283-286.
- [5] Tang Z, Zhou T, Luo YX, et al. Risk factors for cerebrovascular disease mortality among the elderly in Beijing: a competing risk analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e87884.
- [6] Foussal C, Lairez O, Calise D, et al. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(11): 2363-2370.
- [7] Tao JP, Zhu W, Li YP, et al. Apelin-13 protects the heart against ischemia-reperfusion injury through inhibition of ER-dependent apoptotic pathways in a time-dependent fashion[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(4): H1471-H1486.
- [8] Odowd 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.
- [9] 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.
- [10] Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor[J]. *J Neurochem*, 2000, 74(1): 34-41.
- [11] Medhurst AD, Jeanings CA, Robbins MJ, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin[J]. *J Neurochem*, 2003, 84(5): 1162-1172.
- [12] Matthias JK, Anthony PD. Emerging roles of apelin in biology and medicine[J]. *Pharmacol Ther*, 2005, 107(2): 198-211.
- [13] Gu Q, Zhai LJ, Feng X, et al. Apelin-36, a potent peptide, protects against ischemic brain injury by activating the PI3K/Akt pathway[J]. *Neurochem Int*, 2013, 63(6): 535-540.
- [14] Masaki T, Yasuda T, Yoshimatsu H. Apelin-13 microinjection into the paraventricular nucleus increased sympathetic nerve activity innervating brown adipose tissue in rats[J]. *Brain Res Bull*, 2012, 87(6): 540-543.
- [15] Odonnell LA, Agrawal A, Sabnekar P, et al. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury[J]. *Neurochem*, 2007, 102(6): 1905-1917.
- [16] Lang L, Ingorokva S, Hausott B, et al. Selective up-regulation of the vasodilator peptide apelin after dorsal root but not after spinal nerve injury[J]. *Neuroscience*, 2010, 170(3): 954-960.
- [17] Chandra SM, Razavi H, Kim J, et al. Disruption of the apelin-APJ system worsens hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(4): 814-820.
- [18] Kleinz MJ, Skepper JN, Davenport AP. Immunocytochemical localisation of the apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells[J]. *Regul Pept*, 2005, 126(3): 233-240.
- [19] Lauren A, O'Donnell. Apelin, an endogenous neuroal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury[J]. *J Neurochem*, 2007, 102(6): 1905-1917.
- [20] Ban JY, Cho SO, Choi SH, et al. Neuroprotective effect of Smilacis chinensis rhizome on NMDA-induced neurotoxicity in vitro and focal cerebral ischemia in vivo[J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 106(1): 68-77.
- [21] Cook DR, Gleichman AJ, Cross SA, et al. NMDA receptor modulation by the neuropeptide apelin: implications for excitotoxic injury[J]. *J Neurochem*, 2011, 118(6): 1113-1123.
- [22] Odonnell LA, Agrawal A, Jordan-Sciutto KL, et al. Human immunodeficiency virus (HIV)-induced neurotoxicity: roles for the NMDA receptor subtypes[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(3): 981-990.
- [23] Odonnell LA, Agrawal A, Sabnekar P, et al. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal[J]. *J Neurochem*, 2007, 102(6): 1905-1917.
- [24] 杨焱, 崔海瑛, 祝春华, 等. Apelin-13 对鼠脑缺血-再灌注后的作用及机制[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2015, 23(6): 401-408.
- [25] Yang Y, Zhang XJ, Li LT, et al. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke[J]. *Peptides*, 2016, 75: 96-100.
- [26] Huang J, Upadhyay UA, Tamargo RJ. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia[J]. *Surg Neurol*, 2006, 66(3): 232-245.
- [27] Klein JA, Ackerman SL. Oxidative stress, cell cycle, and neurodegeneration[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(6): 785-793.
- [28] Zhuge J, Cederbaum AI. Serum deprivation-induced HepG2 cell death is potentiated by CYP2E1[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 40(1): 63-74.
- [29] 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.

(上接第 377 页)

- [30] Xin Q, Cheng BH, Pan YY, et al. Neuroprotective effects of apelin-13 on experimental ischemic stroke through suppression of inflammation[J]. *Peptides*, 2015, 63:55-62.
- [31] Huang CY, Dai CF, Gong K, et al. Apelin-13 protects neurovascular unit against ischemic injuries through the effects of vascular endothelial growth factor[J]. *Neuropeptides*, 2016, 60:67-74.
- [32] Kalantaripour TP, Esmaili-Mahani S, Sheibani V, et al. Anti-convulsant and neuroprotective effects of apelin-13 on pentylene-tetrazole-induced seizures in male rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 21(84):258-263.
- [33] 张学敏,唐建国,谢娟,等. 急性脑梗死患者不同时期 Apelin-13 及应激相关蛋白水平的变化及其与预后的关系研究[J]. *中国全科医学*, 2016, 19(19):2302-2306.
- [34] Khaksari M, Aboutaleb N, Nasirinezhad FA, et al. Apelin-13 protects the brain against ischemic reperfusion injury and cerebral edema in a transient model of focal cerebral ischemia[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2012, 48(1):201-208.
- [35] Bao HJ, Yang XF, Huang YX, et al. The neuroprotective effect of apelin-13 in a mouse model of intracerebral hemorrhage[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 628(628):219-224.

(2016-12-06 收稿)