

# Apelin-13 在缺血性脑血管病中的研究进展

籍凌蔚 杜怡丹 张耀玲 李曼 马学玲

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)05-0577-04  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.05.017

缺血性脑血管病具有发病率、致残率、致死率、复发率较高的特点,严重威胁人群健康。有研究表明 Apelin-13 参与脑血管病发病过程,由 Apelin-13 和受体血管紧张素 II 1 型受体相关蛋白(Putative receptor protein related to the angiotensin receptor AT1,APJ)组成的 Apelin-13/APJ 信号通路对缺血性脑血管病具有保护作用。本研究主要针对其在缺血性脑血管病中的研究进展进行综述。

## 1 Apelin-13 的基本结构

Apelin 最初是从牛胃分泌物中提取出的一种血管活性肽<sup>[1]</sup>,其基因 APLN 位于染色体 Xq25 上,跨越 9698 bp,是 G 蛋白偶联受体 APJ 的内源性配体,APJ 是一种与血管紧张素 II 1 型受体非常相似的受体,基因位于染色体 11q12 上,跨越 3877 bp,没有内含子。Apelin 前体肽在血管紧张素转化酶 2 剪切下形成各种成熟的分子形式如含有 12、13、17、28 和 36 个氨基酸的短肽<sup>[2]</sup>,Apelin-13 的 C 末端参与调节其生物活性,N 端负责其与受体 APJ 的结合。

## 2 Apelin-13 的生物学功能

Apelin 和 APJ 受体广泛存在于各种组织中如肾脏、心脏、脂肪组织、胃肠道系统和中枢神经系统(Central nervous system,CNS)。Apelin-13 参与许多功能如调节心血管功能、应激反应、进食行为、能量代谢、体液稳态以及诸如胰岛素和胆囊收缩素(Cholecystokinin,CCK)等激素的释放<sup>[3]</sup>。已知 Apelin 通过激活 APJ 下游信号如有丝分裂激活蛋白激酶(Mitotic activated protein kinase,MAPK)/细胞外信号调节激酶(Extracellular signal regulated kinase,ERK)和蛋白激酶 B(Protein kinase B,Akt)表现出血管生成、血管舒张、抗炎和抗凋亡作用<sup>[4]</sup>。

## 3 Apelin-13 与缺血性脑血管病

活性 Apelins 广泛分布在各种器官和组织中。在大脑中 Apelins 在整个神经轴的神经细胞体和纤维中广泛表达<sup>[5]</sup>。作为神经肽,Apelin-13 在体外和体内研究中都表现出神经保护功能。

### 3.1 抑制神经细胞凋亡

在哺乳动物中细胞凋亡有三种主要的信号通路,即死亡

受体信号、线粒体途径和内质网途径,这三种途径的最终共同途径是含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(Cysteine containing aspartate-specific proteases,Caspase)激活<sup>[6]</sup>,认识到线粒体和死亡受体信号通路都参与了脑缺血时凋亡信号的转导<sup>[7]</sup>,死亡受体配体通过受体寡聚、特异性适配蛋白的募集和 Caspase 级联的激活而启动信号转导,进而引起凋亡<sup>[8]</sup>。促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 Associated X Protein,Bax)位于胞浆中,但在死亡信号传导后转运到线粒体,促进细胞色素 C 的释放。释放的细胞色素 C 激活 Caspase-3 和 Caspase 级联,然后引起细胞凋亡。

有研究表明,Apelin-13 可改善脑缺血和脑外伤后的细胞凋亡和自噬<sup>[9]</sup>。在中枢神经系统中凋亡相关基因包括抗凋亡和促凋亡基因,其中 B 细胞淋巴瘤基因-2(B-cell lymphoma-2,Bcl-2)和 Caspase-3 是与细胞凋亡相关的主要因素<sup>[10]</sup>。Bcl-2 对细胞凋亡具有直接的抑制作用,并在细胞周期的所有阶段起作用。有研究表明,Bcl-2 上调可减轻动物模型中的脑缺血<sup>[11]</sup>。Caspase-3 诱导缺血性脑损伤后细胞凋亡<sup>[12]</sup>。有研究结果表明,Apelin-13 通过提高 Bcl-2/Bax 的比值,显著降低裂解的 Caspase-3 的表达,减轻神经元凋亡。此外,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Mammalian target protein of rapamycin,mTOR)途径的 Bcl-2 和磷脂酰肌醇-3-激酶(Phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)/Akt/哺乳动物靶点的表达明显增加。作为 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制剂的 LY294002(20  $\mu$ M)和雷帕霉素(500 nm)均显著减弱了 apelin-13 对自噬和凋亡的抑制作用。Bcl-2 上调和 mTOR 信号通路激活导致细胞凋亡抑制和过度自噬。这些作用参与了 Apelin-13 诱导的脑缺血/再灌注损伤的神经保护,无论是在体内还是在体外<sup>[13]</sup>。Yan 等<sup>[14]</sup>实验发现,Apelin-13 增加了 Bcl-2 抗凋亡蛋白的表达,从而抑制了细胞凋亡。Apelin-13 在大脑缺血再灌注(Ischemia/Reperfusion,I/R)损伤期间抑制 Caspase-3 免疫反应性,并起重要的抗凋亡作用。已有实验证明 Apelin-13 可能通过 mTOR 信号通路抑制自噬和抑制细胞凋亡<sup>[15]</sup>。

PC12 细胞具有典型的神经元特征,高水平的皮质酮可诱导 PC12 细胞的细胞损伤。Akt 和 ERKs 信号通路已被认为在细胞增殖、分化、存活和凋亡中起重要作用<sup>[16]</sup>。Zou 等<sup>[17]</sup>研究探讨了 apelin-13 在皮质酮治疗的 PC12 细胞中的潜在保护活性、细胞活力、细胞凋亡的潜在机制,通过 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide,MTT],Hoechst 染色和流式细胞仪测定以及 Western 印迹检测 Akt(p-

Akt)和磷酸化细胞外信号调节激酶(Phosphorylated-extra-cellular signal-regulated kinase, p-ERKs)水平以及裂解的 Caspase-3 表达水平,结果显示皮质酮可诱导细胞活力丧失、细胞凋亡、p-Akt 和 p-ERK 的下调以及裂解的 Caspase-3 的上调。此外, Apelin-13 介导的抗生存力丧失,抗凋亡和 Caspase-3 抑制活性被磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) (LY294002)和细胞外信号调节激酶 ERKs(PD98059)的特异性抑制剂所阻断,这表明 Apelin-13 通过激活 PI3K/Akt 和 ERKs 信号通路来保护 PC12 细胞免受皮质酮诱导的凋亡。在 Wu 等<sup>[18]</sup> 研究中酪蛋白激酶 2 (Casein kinase 2, CK2)的表达被大鼠的脑 I/R 损伤显著降低,这与真核翻译起始因子 2-活化转录因子 4-增强子结合蛋白同源蛋白 (Initiation factor 2-activating transcription factor 4-CCAAT/enhancer binding protein homologous protein, eIF2-ATF4-CHOP)信号通路的激活相关,从而导致神经元凋亡;发现 Apelin-13 显著上调了 CK2 的表达并抑制了 eIF2-ATF4-CHOP 的激活,从而减轻了脑 I/R 损伤引起的梗死和大鼠神经元凋亡。证明 Apelin-13 对 I/R 损伤诱导的神经元凋亡的挽救效果是通过抑制 Gα 亚基 (Gαi 或 Gαq) (Gαi/Gαq-CK2) 依赖性的 eIF2-ATF4-CHOP 的活化而发挥作用。这表明脑 I/R 损伤抑制了 CK2 的表达并激活了 eIF2-ATF4-CHOP 信号传导,导致神经元凋亡,而 Apelin-13 可以激活 Gαi/Gαq-CK2 信号来减弱 eIF2-ATF4-CHOP 介导的神经元凋亡。

### 3.2 促进新生血管生成

脑血管病的研究不仅集中在内皮细胞上,而且还包括与神经元、星形胶质细胞、周细胞和细胞外基质的相互作用,从而建立了神经血管单元(Neurovascular unit, NVU)。Huang 等<sup>[19]</sup> 在动物模型中依靠特殊的标记来标记细胞,证明 Apelin-13 在局灶性脑缺血模型中减少了神经元死亡,阻断了星形胶质细胞的活化,促进了内皮细胞的发生。在脑组织低氧细胞培养中使用 Apelin-13,并持续观察多个时间点,结果表明 Apelin-13 显著提高了神经元、星形胶质细胞和内皮细胞的活力,这是 NVU 中最重要的组成部分,可以防止 NVU 缺氧损伤。血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF)对脑缺血具有保护作用。据报道,VEGF 增强了神经元的存活、增加了微血管的数量以及促进了脑缺血后胶质细胞的增殖和迁移<sup>[20]</sup>,这表明其对 NVU 的保护作用。Huang 等<sup>[19]</sup> 证实 Apelin-13 通过激活 ERK 和 PI3K/Akt 途径上调 VEGF。陈等<sup>[21]</sup> 测试了 Apelin-13 可以增强脑缺血后血管生成的假设。实验动物从缺血性脑卒中后的第3 d开始每天注射溴脱氧核苷尿嘧啶 (Bromodeoxynucleoside uracil, BrdU),以标记新生细胞,直到脑卒中后21 d处死;检查与胶原Ⅳ共定位的 BrdU 阳性细胞的数目作为血管生成的标志;在接受 Apelin-13 治疗的脑卒中动物的梗死周围区域中存在明显更多的 BrdU<sup>+</sup>/胶原Ⅳ<sup>+</sup> 共标记细胞,这表明用 Apelin-13 处理的动物血管生成增强。

### 3.3 神经保护作用

#### 3.3.1 抑制脑缺血/再灌注后炎症因子的表达

Xin 等<sup>[16]</sup> 研究旨在评估 Apelin-13 对脑缺血/再灌注(I/R)损伤炎症的影响;雄性 Wistar 大鼠的短暂局灶性 I/R 模

型是通过 2 h 大脑中动脉闭塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO),然后进行24 h再灌注来诱导的;测量了髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)的活性,促炎细胞因子的表达包括肿瘤坏死因子-α(Tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(Interleukin-1 β, IL-1β)、细胞间粘附分子-1(Inter-cellular adhesion molecule-1, ICAM-1);证实在 I / R 大鼠中用 Apelin-13 治疗可明显减少神经功能缺损和梗死体积;I/R 诱导的 MPO 活性增加受到 Apelin-13 处理的抑制;实时荧光定量 PCR 显示 Apelin-13 可抑制 I/R 大鼠炎症细胞因子如 IL-1β, TNF-α 和 ICAM-1 的表达。

#### 3.3.2 减少梗死体积和脑水肿

Khaksari 等<sup>[22]</sup> 的研究首次证明, Apelin-13 在局灶性脑缺血的短暂模型中以剂量依赖的方式有效地减少了脑梗死面积和缺血性脑水肿,这可能是通过阻断程序性细胞死亡来实现的。水通道蛋白-4 (Aquaporin-4, AQP4) 与血脑屏障 (Blood-brain barrier, BBB) 有密切的联系,这是由于星形胶质细胞足突的高水平和星形胶质细胞功能的调节。Chu 等<sup>[23]</sup> 实验旨在测试 Apelin-13 对缺血性 BBB 损伤的影响,并检查其影响是否依赖于 AQP4;在大脑中动脉闭塞后第 1、3 和7 d分别检测 Apelin-13 注射液诱导的 AQP4 的表达;同时研究了 Apelin-13 对野生型小鼠脑缺血所致神经功能、梗死体积和 BBB 破坏的影响,并利用 AQP4 敲除小鼠测试了这些影响是否依赖 AQP4。此外,还评估了 Apelin-13 激活的可能信号转导途径,通过星形胶质细胞培养调节 AQP4 的表达,结果显示 Apelin-13 可显著提高 AQP4 的表达,降低神经系统评分和梗死体积;重要的是, Apelin-13 通过降低 BBB 通透性、增加血管内皮生长因子、上调内皮型一氧化氮合酶和下调诱导型 NOS;在形态学上通过电镜检测证明 Apelin-13 抑制了紧密连接的开放和内皮细胞的肿胀;同时, Apelin-13 还能减轻星形胶质细胞的凋亡,促进血管生成;有趣的是, AQP4 对神经功能和梗死体积的影响随着时间的推移而变化,而 AQP4 对 BBB 在所有时间点都有保护作用。此外, Apelin-13 上调了细胞外信号调节激酶(ERK)和 Akt 以及 AQP4 蛋白在培养星形胶质细胞中的磷酸化;后者被 ERK 和磷脂酰肌醇 3'-激酶(PI3K)抑制剂抑制; Apelin-13 在形态学和功能上保护 BBB 免受脑缺血后的破坏,这与 AQP4 水平的升高密切相关,可能是通过激活 ERK 和 PI3K/Akt 途径来实现的。

#### 3.3.3 抑制氧化应激

脑缺血/再灌注损伤(I/R)引起细胞死亡的机制主要是氧化应激。通过引起活性氧(Reactive oxygen species, ROS)过载而参与脑缺血/再灌注损伤,而增加的 ROS 进一步促进线粒体损伤,形成恶性反馈回路。通过抑制氧化应激来阻止这种恶性循环是对缺血性脑卒中的保护作用的主要机制。Apelin 通过增加肾脏中的抗氧化酶(如超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px))的活性来减少脑缺血/再灌注损伤引起的氧化应激<sup>[24]</sup>。DUAN 等<sup>[25]</sup> 实验结果显示, Apelin-13 治疗显著减少梗死面积,改善神经功能,改善脑水肿,抑制 I/R 后细胞凋亡、氧化应激和

神经炎症。Apelin-13 显著增加核因子红细胞 2 相关因子 2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 的表达和一磷酸腺苷 (Adenosine-monophosphate, AMP) 活化的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 和 GSK-3 $\beta$  的磷酸化水平。此外,在培养的 PC12 细胞中也观察到相同的保护作用。用其 siRNA 沉默 Nrf2 基因取消了 Apelin-13 预防 I/R 诱导的 PC12 细胞损伤、氧化应激和炎症。通过其 siRNA 抑制 AMPK 来降低 Apelin-13 诱导的 Nrf2 表达水平,并减弱了 Apelin-13 的保护作用。GSK-3 $\beta$  和 Nrf2 之间的相互作用关系也通过相对过表达得到证实。Apelin-13 通过 AMPK/GSK-3 $\beta$ /Nrf2 途径来提供神经保护。

Foroughi 等<sup>[26]</sup>假设 Apelin-13 可能通过抑制细胞凋亡、自噬和 ROS 反应来充分预防甲基苯丙胺 (Methamphetamine, METH) (是一种强力的精神运动兴奋剂,它具有神经毒性,尤其是在多巴胺能神经元中) 诱导的神经毒性;在这项研究中 PC12 细胞在体外分别暴露于 METH (0.5、1、2、3、4、6 mmol/L) 和 Apelin-13 (0.5、1.0、2.0、4.0、8.0  $\mu$ mol/L) 24 h 以测量确定的剂量,然后测量下游途径以研究细胞凋亡、自噬和 ROS 反应,结果表明 Apelin-13 通过增加细胞活力、降低凋亡率来降低 PC12 细胞中 METH 暴露后的凋亡反应。此外,通过实时荧光定量 PCR 检测 Apelin-13 降低 Beclin-1 的基因表达,通过蛋白质印迹法检测 METH 诱导的 PC12 细胞中微管相关蛋白 1 轻链 3 II (Microtubule-associated protein 1 light chain 3 II, LC3-II) 的表达,且表明自噬被降低。此外,这项研究表明 Apelin-13 可以降低 METH 诱导的 PC12 细胞的细胞内 ROS。提示 Apelin-13 在减少氧化应激方面是有益的。这些结果将支持 Apelin-13 可用作治疗神经退行性疾病的潜在药物。

### 3.3.4 对抗氨基酸兴奋性毒性

大脑缺血后释放的兴奋性氨基酸与其突触后膜上的受体结合,产生神经毒性,造成神经细胞损伤<sup>[27]</sup>。神经细胞中含有 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA),能引起兴奋性毒性。O'Donnell 等<sup>[28]</sup>人证实 Apelin-13 保护海马神经元免受 NMDA 受体介导的兴奋性毒性,进而对海马神经元起到保护作用。由于 NMDA 受体的激活介导了大量的 Ca<sup>2+</sup> 流入,这被认为与兴奋性毒性有关。Zeng 等<sup>[29]</sup>实验证实 Apelin-13 能够抑制细胞内 Ca<sup>2+</sup> 增加,并且以水平依赖性方式保护中枢神经元免受脑缺血后发生的兴奋性毒性作用。

### 3.4 增加动脉粥样斑块的稳定性

动脉粥样硬化 (Atherosclerosis, AS) 是一种慢性炎症性疾病,并且是全球范围内的主要死亡原因<sup>[30]</sup>。血管平滑肌细胞 (Vascular smooth muscle cell, VSMC) 异常增生是 AS 发病的关键决定因素<sup>[31]</sup>。通常, VSMC 位于动脉膜介质中,表现出可收缩的表型调节。由于血管损伤、机械应力或其他刺激, VSMC 失去收缩功能并转换为增生表型,从而导致动脉硬化病变和闭塞<sup>[32]</sup>。Apelin/APJ 系统是 VSMC 功能 (包括增殖、迁移和分化) 的关键调节剂。AS 是一种慢性炎症性疾病,其特征是血管壁中含脂质斑块的积累<sup>[31]</sup>。关键事件主要发生在具有不稳定表型的动脉粥样硬化斑块存在时,被指

定为脆弱斑块。已显示大多数破裂的斑块具有大的坏死核心,上面有一层薄薄的纤维帽,具有明显的炎症和有限的钙化。具有类似组织形态学特征但完整的纤维帽的病灶具有很高的破裂风险<sup>[33]</sup>。因此,开发能够增强斑块稳定性的新型药物可能有助于动脉粥样硬化的治疗。为了更好地理解 Apelin-13 对动脉粥样硬化的作用, Fraga-Silva 等<sup>[34]</sup>旨在研究 Apelin-13 治疗对动脉粥样硬化斑块组成的影响,实验证实 Apelin-13 能提高斑块内胶原含量,减少基质金属蛋白酶 9 (Matrix metalloproteinase 9, MMP-9),降低斑块的脆弱性;有趣的是, Apelin-13 治疗后血清总胆固醇、低密度脂蛋白和游离脂肪酸水平可降低,而高密度脂蛋白 (High density lipoprotein, HDL)、甘油三酯水平无明显变化; Apelin-13 治疗 3 周末改变病变大小,但显著增强动脉粥样硬化斑块的稳定表型,改善血脂水平。这些结果表明, Apelin 系统的激活降低了斑块的脆弱性。

### 3.5 与急性缺血性脑卒中 (Acute ischemic stroke, AIS) 预后的关系

多项研究表明 apelin-13/APJ 信号通路具有神经保护作用,可通过抑制脑缺血后神经元和神经细胞的损伤来改善缺血性脑卒中的预后。Wang 等<sup>[35]</sup>人前瞻性地招募了 244 例 AIS 患者和 167 名健康对照组 (没有脑卒中或心肌梗死史),采集他们脑卒中发作后 24 h 内的静脉血,使用酶联免疫吸附试验 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 方法评估血清 Apelin-13 水平,并使用美国国立卫生研究院卒中量表 (National institutes of health stroke scale, NIHSS) 评估 AIS 的严重程度;主要结果包括死亡或主要残疾 (改良 Rankin 量表评分, 3~6 分) 和主要残疾 (改良 Rankin 量表评分, 3~5 分);次要结果包括复发性脑卒中和合并事件 (全因死亡或心脑血管事件);发现患者血清 Apelin-13 水平低于健康对照组; NIHSS 评分  $\leq 3$  的患者比 NIHSS 评分  $> 3$  的患者具有更高的 Apelin-13 水平;在 3 个月的随访中多因素 Logistic 回归分析表明 Apelin-13 与死亡或主要残疾和主要残疾之间存在关联;在 1 年的随访中高 Apelin-13 水平的患者脑卒中和合并事件的发生率较低。以上结果显示,与健康对照组比较, AIS 患者的 Apelin-13 水平明显降低。血清 Apelin-13 水平与 AIS 的严重程度呈负相关。此外,较高的 Apelin-13 水平与减少功能不良结果和降低不良事件的风险有关。以上研究表明 Apelin-13 对 AIS 预后的影响,并显示 Apelin-13 水平与临床症状严重程度之间的相关性。因此,血清 Apelin-13 水平在 AIS 的严重程度评估和预后预测中具有临床价值,血清 Apelin-13 可能是 AIS 的潜在预后生物标志物,并可能作为潜在的治疗靶点。

## 4 结束语

综上所述, Apelin-13/APJ 信号通路与缺血性脑血管病关系密切,能够抑制神经细胞凋亡,减轻脑损伤和缺血性脑水肿,减少神经功能缺损和梗死体积,促进血管生成,抑制脑缺血/再灌注后炎症细胞因子的表达,减少氧化应激,增强动脉粥样硬化斑块的稳定表型,并改善缺血性脑卒中的预后等。进一步探讨 Apelin-13 在缺血性脑血管病中的作用机理

可为脑血管病的治疗提供新的依据。

## 参 考 文 献

- [1] Tatemoto K HM. Characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor[J]. *Biochem biophys Res commun*, 1998, 251(2): 471-476.
- [2] 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.
- [3] OCarroll 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): R13-35.
- [4] Izzüt-Uysal VN, Gemici B, Birsen I, et al. The effect of apelin on the functions of peritoneal macrophages[J]. *Physiological Research*, 2017, 66(3): 489-496.
- [5] Cheng B, Chen J, Bai B, et al. Neuroprotection of apelin and its signaling pathway[J]. *Peptides*, 2012, 37(1): 171-173.
- [6] Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: Signaling and modulation[J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1305-1308.
- [7] Hou ST, Macmanus JP. Molecular mechanisms of cerebral ischemia-induced neuronal death[J]. *Int Rev Cytol*, 2002, 221(02): 93-148.
- [8] Wallach D, Varfolomeev EE, Malinin NL, et al. Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms[J]. *Annu Rev Immunol*, 1999, 17: 331-367.
- [9] Bao HJ, Zhang L, Han WC, et al. Apelin-13 attenuates traumatic brain injury-induced damage by suppressing autophagy[J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(1): 89-97.
- [10] 刘德胜, 肖诗亮, 王博, 等. 缺氧环境中胸腺素  $\beta_4$  基因转染骨髓间充质干细胞凋亡率及 Bax 和 Bcl-2 的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(41): 6573-6577.
- [11] Okazaki T, Magaki T, Takeda M, et al. Intravenous administration of bone marrow stromal cells increases survivin and Bcl-2 protein expression and improves sensorimotor function following ischemia in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 430(2): 109-114.
- [12] Ayyash M, Tamimi H, Ashhab Y. Developing a powerful in silico tool for the discovery of novel caspase-3 substrates; a preliminary screening of the human proteome [Z], 2012: 22269041.
- [13] Zq S, Dou SS, Zhu JG, et al. Apelin-13 inhibits apoptosis and excessive autophagy in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(6): 1044-1051.
- [14] Yan XG, Cheng BH, Wang X, et al. Lateral intracerebroventricular injection of Apelin-13 inhibits apoptosis after cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(5): 766-771.
- [15] Aminyavari S, Zahmatkesh M, Farahmandfar M, et al. Protective role of Apelin-13 on amyloid  $\beta_{25-35}$ -induced memory deficit; Involvement of autophagy and apoptosis process[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2019, 89: 322-334.
- [16] 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.
- [17] Zou Y, Wang B, Fu W, et al. Apelin-13 protects PC12 cells from Corticosterone-Induced apoptosis through PI3K and ERKs activation[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(7): 1635-1644.
- [18] Wu F, Qiu J, Fan Y, et al. Apelin-13 attenuates ER stress-mediated neuronal apoptosis by activating  $G\alpha(i)/G\alpha(q)$ -CK2 signaling in ischemic stroke[J]. *Exp Neurol*, 2018, 302: 136-144.
- [19] 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.
- [20] Sanchez A, Wadhwani S, Grammas P. Multiple neurotrophic effects of VEGF on cultured neurons [J]. *Neuropeptides*, 2010, 44(4): 323-331.
- [21] Chen D, Lee J, Gu X, et al. Intranasal delivery of apelin-13 is neuroprotective and promotes angiogenesis after ischemic stroke in mice [J]. *ASN Neuro*, 2015, 7(5): 1759091415605114.
- [22] 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.
- [23] Chu H, Yang X, Huang C, et al. Apelin-13 protects against ischemic Blood-Brain barrier damage through the effects of aquaporin-4[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2017, 44(1/2): 10-25.
- [24] Bircan B, Çakır M, Kırbağ S, et al. Effect of apelin hormone on renal ischemia/reperfusion induced oxidative damage in rats [J]. *Ren Fail*, 2016, 38(7): 1122-1128.
- [25] Duan JL, Jia C, Yang ZF, et al. Neuroprotective effect of Apelin 13 on ischemic stroke by activating AMPK/GSK-3 $\beta$ /Nrf2 signaling [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 30709405.
- [26] Foroughi K, Khaksari M, Rahmati M, et al. Apelin-13 protects PC12 cells against Methamphetamine-Induced oxidative stress, autophagy and apoptosis[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(9): 2103-2112.
- [27] 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.
- [28] ODonnell LA, Agrawal A, Sabnekar P, et al. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury[J]. *J Neurochem*, 2007, 102(6): 1905-1917.
- [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.
- [30] Tabas I, García-Cardena G, Owens GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis[J]. *J Cell Biol*, 2015, 209(1): 13-22.
- [31] Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 692-702.
- [32] Zhang C, Chen D, Maguire EM, et al. Cbx3 inhibits vascular smooth muscle cell proliferation, migration, and neointima formation[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(3): 443-455.
- [33] Moreno PR. Vulnerable plaque: definition, diagnosis, and treatment[J]. *Cardiol Clin*, 2010, 28(1): 1-30.
- [34] Fraga-Silva RA, Seeman H, Montecucco F, et al. Apelin-13 treatment enhances the stability of atherosclerotic plaques[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 111(1): S107.
- [35] Wang X, Tian X, Pei LL, et al. The association between serum apelin-13 and the prognosis of acute ischemic stroke[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(4): 700-707.

(2020-12-24 收稿)