

## APJ 受体作为心肌细胞压力感受器 诱导心肌肥厚的形成\*

谢 凤 李兰芳 陈临溪\*\*

(南华大学药物药理研究所, 湖南省高等学校药物蛋白质组学重点实验室, 衡阳 421001)

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00416

美国桑福德 - 伯纳姆医学研究所和斯坦福大学医学院的研究人员 Pilar Ruiz-Lozano 博士等于 2012 年 8 月 16 日在《自然》杂志(*Nature*)上发表了一篇关于 APJ 与心肌肥厚的关系及其机制研究的论文, 发现在主动脉缩窄术构建的压力负荷大鼠模型中, APJ 基因敲除的大鼠和 apelin 基因敲除的大鼠表现出不同的心肌肥厚和心力衰竭进程<sup>[1]</sup>。该研究的领导者 Pilar Ruiz-Lozano 博士是桑福德 - 伯纳姆医学研究所的原助理教授, 现为斯坦福大学医学院儿科学副教授及桑福德 - 伯纳姆医学研究所兼职教员。Ruiz-Lozano 的研究团队, 包括共同第一作者 Maria Cecilia Scimia 博士和 Cecilia Hurtado 博士等, 在给大鼠行动脉缩窄术后 90 天发现: apelin 基因敲除大鼠和野生型大鼠均表现出明显的心肌肥厚特征, 心肌的重量、大小及纤维化明显增加, 而 APJ 基因敲除大鼠没有出现心肌肥厚特征; 同时野生型和 APJ 基因敲除大鼠血液中 apelin 的表达增加, apelin 基因敲除大鼠血液中 apelin 的表达没有变化; 给予外源性 apelin 刺激, APJ 基因敲除大鼠的心肌功能并不能得到改善。

Apelin- 血管紧张素样受体(apelin-angiotensin receptor-like, APJ)是 1993 年由 O'Down 等发现的一种 G 蛋白耦联受体, apelin 为其内源性配体<sup>[2-3]</sup>。大量资料显示, APJ 被 apelin 激活后, 发挥重要的心血管效应, 如正性肌力、降血压、调节血管新生等<sup>[4-6]</sup>; 本实验室报道 apelin 可以通过 PI3K/Akt、ERK1/2、Cyclin D1、14-3-3 和 NOX4 等信号通路促进血管平滑肌细胞增殖<sup>[7-11]</sup>及通过 PI3K 和 14-3-3 信号促进人脐静脉内皮细胞和单核细胞黏附<sup>[12-13]</sup>

等; 同时还有研究报道, 在心肌肥厚或心力衰竭等心肌损伤下, apelin 具有保护心肌, 改善心肌功能及心肌重塑、抑制心肌肥厚等作用<sup>[14-17]</sup>。

Ruiz-Lozano 等认为 APJ 受体在心肌肥厚形成中发挥着重要的作用; 但这种作用却与 apelin 的水平无关。这与先前的研究认为“apelin 通过激活 APJ 受体而发挥心血管保护作用”存在矛盾。已有研究报道高血压患者血浆 apelin 水平与左心室质量指数、内膜中膜厚度和斑块指数均呈明显负相关<sup>[18]</sup>。本实验室研究结果发现, 在双肾双夹易卒中中型肾血管性高血压大鼠模型及腹主动脉缩窄术构建的左心室肥厚大鼠模型中均出现 APJ、apelin 的表达异常增加而 ACE2 表达减少的现象<sup>[19]</sup>。Ruiz-Lozano 等的这些结果表明, apelin/APJ 系统与压力负荷心肌的损伤之间存在复杂的关系, 不能简单地认为是保护作用, 且中间存在有不依赖于 apelin 的 APJ 调节通路。这为研究 apelin/APJ 系统及其在心血管系统的作用提供了一条新的思路。

如果 APJ 受体可以通过一条不依赖于 apelin 的途径发挥作用, 那么 APJ 还可通过什么途径发挥作用呢? Ruiz-Lozano 等认为主动脉缩窄术引起的压力负荷为其主要的响应信号。因此, 他们采用了一种叫做拉伸(stretch)刺激的力作用于心肌细胞, 发现 APJ 基因敲除大鼠的心肌细胞对此种作用力

\* 国家自然科学基金(30901577, 81270420)资助项目。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 0734-8282614, E-mail: chenlinxi@tom.com

收稿日期: 2012-08-18, 接受日期: 2012-12-18

的反应远远小于野生型大鼠，给予 apelin 刺激后，野生型大鼠可以减弱心肌细胞对这种刺激力的反应，但是对于 APJ 敲除组却没有影响，同时发现 stretch 刺激可以引起心肌 APJ 受体的激活。这些结果提示我们，APJ 很有可能是心肌细胞的一个压力感受器，可以调节心肌细胞对外界压力的反应。外界刺激力 stretch 和内源性配体 apelin 均可引起 APJ 受体的激活，两种状态下 APJ 的激活是否有什么不同呢？有研究报道，apelin 与 APJ 结合后主要通过激活 Gai 蛋白来发挥效应<sup>[20]</sup>，Gai 蛋白的激活可以抑制腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)而降低环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)的浓度<sup>[21]</sup>。Ruiz-Lozano 等发现，无论用 apelin 还是 stretch 刺激心肌细胞，均出现 cAMP 表达增加，Gai 蛋白抑制剂 PTX 能够阻断 apelin 对 APJ 的活化，但不能阻断 stretch 刺激对 APJ 的激活，且在 stretch 刺激引起 APJ 活化过程中伴有  $\beta$ -arrestins 聚集的现象。 $\beta$ -arrestins 是在提纯  $\beta$ -肾上腺素能受体激酶( $\beta$  adrenergic receptor kinase,  $\beta$ -ARK)的过程中发现的一种视黄醛蛋白质<sup>[22]</sup>，是 GPCRs 信号通路的一种重要的负调节因子，与 G 蛋白耦联受体激酶(G protein-coupled receptor kinase, GPCRK)联合作用，可以使 GPCRs 对激动剂的敏感性下降，发生受体的脱敏反应<sup>[23]</sup>。有研究报道， $\beta$ -arrestins 介导了  $\beta$ 2 肾上腺素能受体( $\beta$ 2 adrenergic receptor,  $\beta$ 2AR)和血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)受体的脱敏<sup>[24-25]</sup>，APJ 受体与  $\beta$ 2AR 和血管紧张素 II 受体有很高的同源性<sup>[3]</sup>，故此， $\beta$ -arrestins 很有可能也介导了 APJ 受体的脱敏。Ruiz-Lozano 等研究的这些结果说明，压力负荷引起的 APJ 活化与 apelin 对 APJ 的活化不同，它虽然活化 Gai 蛋白，但不通过 Gai 蛋白，而与  $\beta$ -arrestins 聚集有关。这是首次提出 APJ 受体除了被 apelin 这种内源性的配体激活外，还可以通过外界压力负荷所激活，且激活的途径还不一样！这是对 apelin/APJ 系统理论的一个重要的补充，为 apelin/APJ 系统及其信号通路的研究提供了新的理论基础。

如果 APJ 可以通过不同途径激活，那么激活后其效应是否也不一样呢？Ruiz-Lozano 等检测了这两种不同的 APJ 激活方式对心肌肥厚的影响，结果发现，stretch 激活 APJ 后可引起心肌细胞的体积增大，诱导一些细胞肥大的标记因子如  $\beta$ -肌球蛋白重链与  $\alpha$ -肌球蛋白重链的比值(ratio of  $\beta$ - to

$\alpha$ -myosin heavy chain,  $\beta$ -MHC/ $\alpha$ -MHC)和心房利钠因子(atrial natriuretic factor, ANF)的产生；且这些作用不受 Gai 蛋白抑制剂 PTX 的影响；而 apelin 却不能够引起心肌细胞出现肥厚特征，反而可以阻断 stretch 刺激引起的心肌肥厚特征，且其作用可被 Gai 蛋白抑制剂 PTX 阻断。这些结果表明，stretch 刺激和 apelin 引起 APJ 活化后，将发挥出不同的效应：stretch 激活 APJ 后可以促进心肌肥厚的形成；而 apelin 激活 APJ 后发挥的是一个保护性的作用，APJ 可以接收 apelin 和 stretch 刺激这两种信号，从而调节对心肌肥厚形成的影响。同时，这些结果还暗示我们 apelin 可能不仅仅只是 APJ 的激活剂，而且可能是选择性的 stretch 刺激诱导 APJ 活化的一个抑制剂。已有研究报道，apelin-APJ 可预防 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)和血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)引起的心肌肥厚。如 Foussal 等<sup>[15]</sup>发现，apelin 呈剂量依赖性抑制 5-HT 及其产生的氧化应激所诱导的大鼠乳鼠心肌细胞肥大反应，该过程伴随过氧化氢酶 mRNA 表达增加和过氧化氢酶活性增强；用 apelin 长期处理小鼠，可减弱超负荷引起的左室肥厚，并认为 apelin 作为过氧化氢酶活化剂发挥预防活性氧依赖性心脏肥厚所引起的心衰。余洋等<sup>[26]</sup>报道，apelin-13 可抑制血管紧张素 II 促大鼠乳鼠心肌细胞肥大效应，并推测可能与 NO 生成增加有关。5-HT 和 Ang II 均为心肌肥厚诱导因子，apelin 可以抑制这些诱导因子的促心肌肥厚作用。但是本实验室却发现，外源性给予 apelin-13(2  $\mu$ mol/L)刺激大鼠 H9c2 心肌细胞 96 h，心肌细胞出现细胞直径、体积增大，细胞内蛋白质合成速率增加等心肌细胞肥大特征(未发表结果)；说明 apelin 具有促进心肌肥厚形成的作用，这与前面的研究结果相反。Ruiz-Lozano 等的研究中提到 stretch 刺激和 apelin 引起的 APJ 的活化是相互影响的，apelin 可以阻断 stretch 刺激诱导的心肌细胞肥大，而 stretch 刺激也干扰着 apelin 对 APJ 受体的活化，而这两种作用的交汇点在 APJ 受体。因此，作者猜想 apelin 激活 APJ 后，也有可能发挥出促进心肌肥厚的作用，只是这种作用在有危险因子存在的情况下被危险因子信号所掩盖。所以，在有压力或神经细胞因子如 5-HT 和 Ang II 作用下，apelin 能够抑制这些因子的作用而表现出一个保护性角色，而在没有这些刺激因子存在的情况下，apelin 却表现出促进心肌肥厚的特征。

在寻求心血管疾病治疗的过程中, 研究人员和制药公司长期以来对开发出能激活心脏 APJ 受体的新药抱着浓厚的兴趣. 然而 Ruiz-Lozano 等的研究却提出了 APJ 的第二种功能: 它能够引起心脏感知外界刺激, 介导外界刺激对心脏的损伤. 这意味着在某些情况下激活 APJ 实际上可能是有害的, 所以单纯地找到能够激活 APJ 的分子, 对治疗心血管疾病是不够的, 我们必须还要了解其被激活的方式. 此外, Ruiz-Lozano 等的研究表明, APJ 受体很有可能是一个重要的机械刺激信号靶标, 这暗示如果心肌细胞上没有 APJ 受体, 心脏将不能感受压力刺激, 从而不会启动代偿性信号反应, 因而也不会出现心肌肥厚甚至心力衰竭现象. 但是, 即使心脏不能感受压力刺激, 压力刺激仍然会对心脏产生损伤, 所以单纯地敲除 APJ 受体或者干扰 APJ 受体的表达对于治疗心血管疾病也不是最佳方案. 另外, apelin 可以通过激活 APJ 受体而发挥保护心肌的作用, 同时还可以抑制压力负荷诱导的 APJ 受体活化, 说明 apelin 是压力负荷的对抗剂, 如果从 apelin 出发, 开发出 apelin 类似的分子, 可能成为治疗心血管疾病的药物. 但是, 在没有刺激因子的作用下, apelin 激活 APJ 后是否仍能发挥一个保护性的作用, 这还需要进一步探讨, 故要将 apelin 及其类似物开发为药物之前还得做进一步研究. 所以, 研究人员及制药公司在开发 apelin/APJ 系统药物来治疗心血管疾病时, 对其作用及其机制还有待进一步研究.

### 参 考 文 献

- [1] Scimia M C, Hurtado C, Ray S, *et al.* APJ acts as a dual receptor in cardiac hypertrophy. *Nature*, 2012, **488**(7411): 394-398
- [2] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, *et al.* Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **251**(2): 471-476
- [3] O'Dowd B F H M, Chan A. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 1993, **136**(1-2): 355-360
- [4] Charo D N, Ho M, Fajardo G, *et al.* Endogenous regulation of cardiovascular function by apelin-APJ. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, **297**(5): H1904-1913
- [5] Tiani C, Garcia-Pras E, Mejias M, *et al.* Apelin signaling modulates splanchnic angiogenesis and portosystemic collateral vessel formation in rats with portal hypertension. *J Hepatol*, 2009, **50**(2): 296-305
- [6] Szokodi I, Tavi P, Foldes G, *et al.* Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*, 2002, **91**(5): 434-440
- [7] Li L F, Li F, Mao X, *et al.* NOX4-derived reactive oxygen species drive apelin-13-induced vascular smooth muscle cell proliferation via the ERK pathway. *Int J Pept Res Ther*, 2011, **17**(4): 307-315
- [8] Liu C, Su T, Li F, *et al.* PI3K/Akt signaling transduction pathway is involved in rat vascular smooth muscle cell proliferation induced by apelin-13. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, **42**(6): 396-402
- [9] 潘伟男, 李 峰, 毛小环, 等. 14-3-3 参与 apelin-13 促进大鼠血管平滑肌细胞增殖 ERK1/2 信号途径研究. *生物化学与生物物理进展*, 2011, **38**(12): 1153-1161  
Pan W N, Li F, Mao X H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(12): 1153-1161
- [10] Li F, Li L, Qin X, *et al.* Apelin-induced vascular smooth muscle cell proliferation: the regulation of cyclin D1. *Front Biosci*, 2008, **13**: 3786-3792
- [11] 刘厂辉, 李 新, 陈 锋. ERK1/2 介导自发性高血压大鼠离体血管环对 apelin-13 舒张反应性降低作用. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(12): 1578-1588  
Liu G H, Li X, Chen F. *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(12): 1578-1588
- [12] 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. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, **42**(6): 403-409
- [13] 毛小环, 苏桃, 张先慧, 等. PI3K 信号通路介导 apelin-13 促进单核细胞-血管内皮细胞黏附的研究. *生物化学与生物物理进展*, 2011, **38**(12): 1162-1170  
Mao X S T, Zhang X, Li F, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(12): 1162-1170
- [14] Falcao-Pires I, Goncalves N, Henriques-Coelho T, *et al.* Apelin decreases myocardial injury and improves right ventricular function in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, **296**(6): H2007-2014
- [15] Foussal C, Lairez O, Calise D, *et al.* Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Lett*, 2010, **584**(11): 2363-2370
- [16] Peltonen T, Napankangas J, Vuolteenaho O, *et al.* Apelin and its receptor APJ in human aortic valve stenosis. *J Heart Valve Dis*, 2009, **18**(6): 644-652
- [17] Zeng X J, Zhang L K, Wang H X, *et al.* Apelin protects heart against ischemia/reperfusion injury in rat. *Peptides*, 2009, **30**(6): 1144-1152
- [18] 李 莉, 李瑞杰, 宋丽芬, 等. 高血压患者血浆 Apelin 与左心室肥厚及颈动脉粥样硬化的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2008, **16**(7): 556-558  
Li L, Li R J, Song L F, *et al.* *Chin J Arterioscler*, 2008, **16**(7): 556-558
- [19] 李兰芳, 李 峰, 陈临溪, 等. 双肾双夹易卒中型肾血管性高血压大鼠重要靶器官小窝蛋白的表达. *高血压杂志*, 2005, **13**(8): 492-495  
Li L F, Li F, Chen L X, *et al.* *Chinese J Hypertension*, 2005, **13**(8): 492-495

- [20] Jia Y X, Pan C S, Zhang J, *et al.* Apelin protects myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *Regul Pept*, 2006, **133** (1-3): 147-154
- [21] Civelli O. GPCR deorphanizations: the novel, the known and the unexpected transmitters. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, **26**(1): 15-19
- [22] Benovic J L K H, Weyand I. Functional desensitization of the isolated  $\beta$ -arrestin receptor by the  $\beta$ -adrenergic receptor kinase: potential role of an analog of the retinal protein arrestin (48KDa protein). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, **84**(24): 8879-8882
- [23] Gurevich V V, Gurevich E V. The structural basis of arrestin-mediated regulation of G-protein-coupled receptors. *Pharmacol Ther*, 2006, **110**(3): 465-502
- [24] Prossnitz E R. Novel roles for arrestins in the post-endocytic trafficking of G protein-coupled receptors. *Life Sci*, 2004, **75** (8): 893-899
- [25] Ahn S, Nelson C D, Garrison T R, *et al.* Desensitization, internalization, and signaling functions of beta-arrestins demonstrated by RNA interference. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(4): 1740-1744
- [26] 余 洋, 黄德嘉. Apelin 对心肌细胞肥大的影响. *心脏杂志*, 2006, **2**(1): 71-75  
Yu Y, Huang D J. *Chin Heart J*, 2006, **2**(1): 71-75