论著

文章编号:1000-5404(2014)17-1822-06

外源性 apelin-13 对大鼠动脉粥样硬化形成的影响

刘 丹,刘增长 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院心内科)

[摘要] **目的** 探讨外源性 apelin-13 多肽对大鼠动脉粥样硬化形成的影响及可能机制。**方法** 将 60 只 SD 大鼠分为 4 组($n=15$):正常对照组(普通饲料)、高脂模型组(高脂饲料,生理盐水尾静脉注射)、低剂量 apelin 组(高脂喂养同时隔天给予 apelin-13 2 mg/kg 尾静脉注射)、高剂量 apelin 组(高脂喂养同时隔天给予 apelin-13 8 mg/kg 尾静脉注射)。于高脂喂养伊始一次性给予后 3 组大鼠维生素 D_3(60×10^4 U/kg)腹腔注射。12 周末造模结束后,检测大鼠血脂、丙二醛(malondialdehyde,MDA)及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)水平;HE 染色观察主动脉弓处组织形态学变化;免疫组化观察平滑肌肌动蛋白(α-SMA)及 p22phox 在各组血管的表达;超声观察各组腹主动脉病变情况;Western blot 检测各组 p22phox、NF-κB p65、JNK 及 p-JNK 的表达。**结果** ①与正常对照组相比,其他 3 组血脂(除外 HDL-C)均明显升高($P<0.01$)。高、低剂量 apelin 组较高脂模型组 MDA 下降,SOD 升高,高剂量 apelin 组变化更显著($P<0.01$)。②病理观察:高脂模型组及低剂量 apelin 组主动脉内膜明显增厚、不光滑,纤维斑块形成伴大量炎症细胞浸润、胆固醇结晶及钙化病灶,呈典型动脉粥样硬化改变。高剂量 apelin 组大鼠主动脉内膜稍欠光滑,有轻微增厚,中层平滑肌细胞排列较紊乱,伴少量纤维增生及炎症细胞浸润。③超声检测:高脂模型组及低剂量 apelin 组大鼠腹主动脉内膜欠清晰、不光滑、连续性中断,管壁增厚,可见较小斑块突出于管腔。④免疫组化显示主动脉 α-SMA 表达:其他 3 组显著低于正常对照组($P<0.01$);高、低剂量 apelin 组显著高于高脂模型组($P<0.01$);高剂量 apelin 组显著高于低剂量组($P<0.01$)。高、低剂量 apelin 组的 p22phox 表达明显少于高脂模型组($P<0.01$)。⑤Western blot 显示主动脉 p22phox、NF-κB p65 及 p-JNK 在其他 3 组表达显著高于正常对照组($P<0.01$);p22phox、NF-κB p65 在高、低剂量 apelin 组的表达显著低于高脂模型组($P<0.01$);p-JNK 在低剂量 apelin 组及高脂模型组间无差异;p22phox、NF-κB p65 及 p-JNK 在高剂量 apelin 组的表达较低剂量 apelin 组显著减少($P<0.01$);各组 JNK 表达无明显差异($P>0.05$)。**结论** 外源性 apelin-13 多肽能减轻氧化应激效应在大鼠动脉粥样硬化形成中的作用,能抑制平滑肌细胞增殖,减缓动脉粥样硬化发展,其机制可能是通过阻止 JNK/NF-κB 信号通路激活。

[关键词] 动脉粥样硬化;氧化应激;血管平滑肌细胞;爱帕琳肽;核因子 κB;c-Jun 氨基末端激酶
[中图法分类号] R543.5; R965; R977.6 [文献标志码] A

Effect of exogenous apelin-13 on formation of atherosclerosis in rats

Liu Dan, Liu Zengzhang (Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effects of exogenous apelin-13 peptide on the formation of atherosclerosis in rats, and investigate its possible underlying mechanisms. **Methods** A total of 60 SD rats (7 to 8 months old, weighing 170 to 220 g) were randomly divided into 4 groups ($n=15$), that is, normal control group (group N, fed with normal diet), model group (group M, fed with high fat diet, every 2 d given normal saline through caudal vein), low-dose apelin-13 group (group LA, fed with high fat diet, every 2 d receiving 2 mg/kg apelin-13 through caudal vein), and high-dose apelin-13 group (group HA, fed with high fat diet, every 2 d given 8 mg/kg apelin-13 through caudal vein). In the beginning of high-fat feeding, the rats of latter 3 groups were injected intra-peritoneally with 60×10^4 U/kg vitamin D3 for one time. At the end of 12 weeks' feeding, the rats' blood samples were harvested for their serum lipids levels, malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity in each group. Ultrasound examination was used to observe abdominal aortic lesions. After all rats were killed, their aortic arches were collected. HE staining was employed to observe the morphological changes of artery tissue, immunohistochemical assay to detect the expression of smooth muscle actin (α-SMA) and p22phox, and Western blotting to detect the expression of

[通信作者] 刘增长,E-mail:liuzengzhang666@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140701.1150.006.html(2014-07-01)

p22phox, NF-κB p65, JNK and p-JNK. **Results** Compared with group N, the lipids of the other 3 groups were significantly increased besides HDL-C ($P<0.01$). The MDA content was significantly lower, while SOD activity was higher in group LA and group HA than in group M, with those in group HA more significant ($P<0.01$). HE staining indicated that the group M and group LA had significantly thickened and unsmooth intima in the aortic arch, with many fibrosis plaques, inflammatory cells infiltration, cholesterol crystal and calcification, suggesting obvious typical signs of atherosclerosis. In HA group, the slightly thickened intima was a little less smooth, and smooth muscle cells arranged in a little disorder, with few fibrosis and inflammatory cells infiltration. Ultrasonic detection showed that abdominal aorta intima was less clear, rough, discontinuous and thickened, and even small proliferous plaques in the lumen in group M and group LA. Immunohistochemical staining showed that the expression of α-SMA in the aorta were significantly lower in the other 3 groups than in group N ($P<0.01$), and those of group M and group HA was significantly higher than that in group LA ($P<0.01$). The expression of p22phox was significant lower in group LA and group HA with group M($P<0.01$), with the HA group lowest. Western blotting showed that the expression of p22phox, NF-κB p65 and p-JNK were significantly higher in the other 3 groups than in group N ($P<0.01$). Compared with group LA and group HA, expression of p22phox, NF-κB p65 of group M was significantly higher($P<0.01$); p-JNK expression had no significant difference among group LA, group HA and group M ($P>0.05$);The expression of p22phox, NF-κB p65 and p-JNK was lower in group HA than in group LA ($P<0.01$); JNK expression showed no significant difference between group LA and group M ($P>0.05$). **Conclusion** Exogenous apelin-13 peptide reduces the oxidative stress effects in the formation of atherosclerosis in rats, and inhibits smooth muscle cell proliferation, which might be through preventing the activation of JNK/NF-κB signaling pathway.

[**Key words**] atherosclerosis; oxidative stress; vascular smooth muscle cells; apelin; nuclear factor-κB; c-jun N-terminal kinase

Corresponding author: Liu Zengzhang, E-mail: liuzengzhang666@163.com

Chandrasekaran 等[1]发现 apelin 能与 G 蛋白受体 APJ 耦联而发挥生物效应。apelin/APJ 广泛分布在心血管系统，提示其在心血管系统中发挥着重要作用[2]。apelin 与血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)不仅具有高度同源性，而且均能被血管紧张素转化酶2(Angiotensin-Converting Enzyme 2, ACE2)分解[3]。AngⅡ与 ACE2 均在动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)发生、发展中起至关重要作用[4-5]。因此，有理由推测 apelin 也可能作为新的治疗方向应用于动脉粥样硬化疾病。目前国外对 apelin 与动脉粥样硬化关系的研究正处于起步阶段，学者们的意见不统一[6-10]，是心血管疾病的研究热点。本实验拟通过尾静脉注射外源性 apelin 多肽，研究 apelin 对大鼠 AS 形成的影响并探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

胆固醇及胆酸钠(上海生工生物工程公司)；丙硫氧嘧啶(阿拉丁试剂公司)；apelin-13(上海吉尔生化)；丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测试盒及血清脂蛋白测试盒(南京建成生物工程公司)；人抗小鼠 p-JNK 单克隆抗体、人抗兔 JNK 多克隆抗体、人抗兔 NF-κB p65 多克隆抗体(碧云天生物技术研究所)，人抗兔 p22phox 多克隆抗体(Santa Cruz 公司)，抗鼠 α-SMA 单克隆抗体(武汉博士德公司)。Olympus 偏振光显微镜；Bio-Rad 公司凝胶成像分析仪，SUNRISE 酶标仪，西门子 SEQUIA512 超声仪。

1.2 动物模型建立及分组

雄性 SD 大鼠 60 只，7～8 周龄，体质量 170～220 g，由重庆医科大学动物实验中心提供，动物使用许可证号：SYXK(渝)2007-0001。分为4组($n=15$)：正常对照组(普通饲料)、高脂模型组(高脂饲料，生理盐水尾静脉注射)、低剂量 apelin 组(高脂喂养同时隔天给予 apelin-13 2 mg/kg 尾静脉注射)、高剂量 apelin 组(高脂喂养同时隔天给予 apelin-13 8 mg/kg 尾静脉注射)；参照文献[11]方法自制高脂饲料喂养，各组自由饮水，共喂养 12 周。在高脂喂养开始，均一次性给予后 3 组大鼠维生素 D_3(60×10^4 U/kg)腹腔注射。12 周末造模结束时，各组 SD 大鼠存活数量如下：正常对照组 14 只，高脂模型组 10 只，低剂量 apelin 组 11 只，高剂量 apelin 组 13 只。

1.3 血清生化指标检测

于造模第 12 周末将各组 SD 大鼠禁食 12 h，乙醚短时间麻醉后通过毛细采血针刺入眼眶静脉采血，4 ℃冰箱放置过夜后以 16 000×g 高速离心 15 min，小心吸取上层清液分装于 EP 管置于－80 ℃冰箱待测。按照试剂盒说明书在 SUNRISE 酶标仪上用 96 孔板检测各组血清光密度值(波长按试剂盒要求调整)，并计算相关血清生化指标。

1.4 超声检测

SD 大鼠饲养 12 周末，给予 4% 水合氯醛(5 μL/g)腹腔麻

醉,仰卧位。探头频率为10~15 MHz,沿腹正中线偏左不断调整探头角度重点采集腹主动脉图像,记录腹主动脉内中膜粥样硬化病变部位。

1.5 病理组织学检测

10%水合氯醛(7 μL/g)腹腔麻醉后处死大鼠,仔细分离出升主动脉根部至左右髂血管主动脉全段。所取每组大鼠动脉组织中一部分存于液氮用于Western blot检测;余下动脉置于10%甲醛溶液中,用于HE染色及免疫组化检测。运用Image-Pro Plus6.0图像分析系统,每组切片随机选取3张,在200或400倍镜下,每张切片再选取5个视野,以细胞质成棕黄色为阳性表达,计算视野阳性细胞面积与该视野动脉总面积比值,结果以平均光密度值表示。

1.6 Western blot检测蛋白表达

按照实验室常规方法提取蛋白,BCA法蛋白定量,加入5×SDS-PAGE调整浓度,煮沸后分装至-80 ℃保存。经SDS-PAGE电泳后以5%脱脂奶粉或5% BSA封闭2 h,分别加入鼠抗p-JNK单克隆抗体(1∶400)、兔抗JNK(1∶1 000)、兔抗p22phox(1∶200)及NF-κB p65(1∶500)多克隆抗体,4 ℃冰箱孵育过夜,对应一抗选择辣根过氧化酶标记二抗,37 ℃烤箱孵育1 h,洗膜后ECL显影,采用Quantity One 4.62凝胶电泳分析软件进行图像分析。

1.7 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较行方差分析,组间两两比较采用LSD法。

2 结果

2.1 血清脂质指标检测

与正常对照组比较,高脂模型组、低剂量apelin组及高剂量apelin组的TC、TG及LDL-C均明显升高($P<0.01$),HDL-C明显降低($P<0.01$);高脂模型组、低剂量apelin组及高剂量apelin组相互比较,TC、TG、HDL-C及LDL-C均无差异($P>0.05$,表1)。提示apelin-13对动脉粥样硬化大鼠血脂未能产生影响。

表1 apelin-13干预后12周末各组大鼠血清脂质指标水平

(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	14	1.354±0.083	0.708±0.068	0.612±0.076	0.451±0.060
高脂模型组	10	25.564±2.191[a]	0.957±0.082[a]	0.307±0.028[a]	9.167±0.598[a]
低剂量apelin组	11	25.334±1.726[a]	0.986±0.127[a]	0.310±0.035[a]	9.056±0.701[a]
高剂量apelin组	13	25.465±2.451[a]	0.967±0.099[a]	0.309±0.026[a]	9.061±0.351[a]

a:$P<0.01$,与正常对照组比较

2.2 血清MDA与SOD检测

与正常对照组比较,其余3组的MDA均明显升高且SOD明显降低($P<0.01$);与高脂模型组相比,低、高剂量apelin组MDA降低且SOD升高($P<0.01$);与低剂量apelin组比较,高剂量apelin组MDA明显降低且SOD明显升高($P<0.01$,表2)。以上反应氧化应激相关指标的变化提示apelin-13能减轻动脉粥样硬化大鼠氧化应激反应,且高剂量apelin-13具有更好的效果。

表2 apelin-13干预后12周末各组血清MDA与SOD水平比较

(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	MDA	SOD
正常对照组	14	2.675±0.235	1.684±0.113
高脂模型组	10	41.972±3.527[a]	0.791±0.039[a]
低剂量apelin组	11	38.472±2.580[ab]	0.891±0.092[ab]
高剂量apelin组	13	7.922±0.819[abc]	1.445±0.118[abc]

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.01$,与高脂模型组比较;c:$P<0.01$,与低剂量apelin组比较

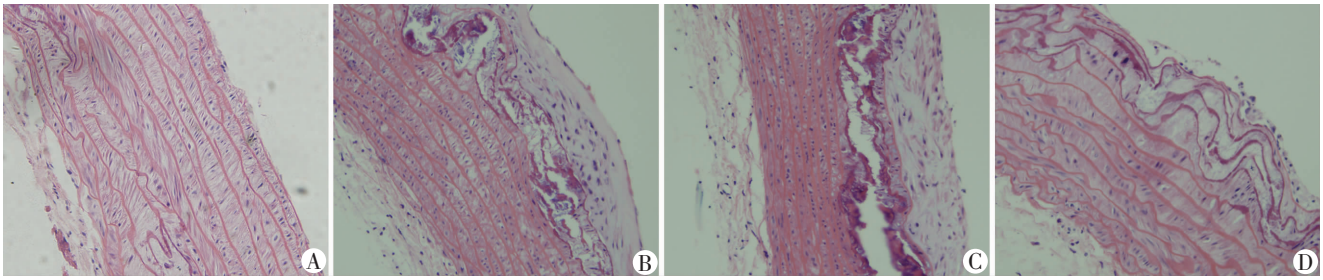
2.3 主动脉弓处病理形态学观察

正常对照组大鼠主动脉弓内膜光滑,内皮细胞连续完整,中层平滑肌细胞形态规则,排列均匀整齐,结构清晰,未见明显脂质沉积。高脂模型组及低剂量apelin组主动脉结构不清晰,内膜增厚显著,隆起的纤维斑块周围有大量炎症细胞浸润,伴胆固醇结晶及钙化病灶。高剂量apelin组内膜欠光滑,有轻微增厚,中层平滑肌细胞排列较紊乱,伴少量纤维增生及炎症细胞浸润(图1)。

2.4 免疫组化检测蛋白表达

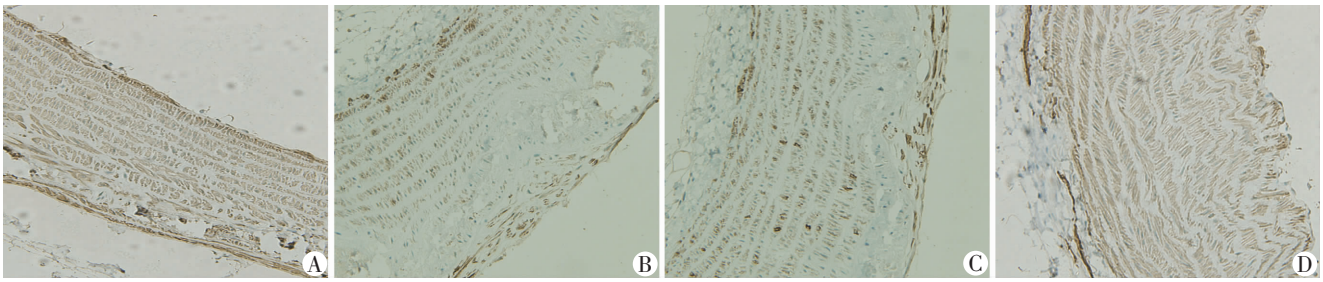
2.4.1 α-SMA在主动脉弓上的表达 α-SMA染色棕黄色信号主要表达定位于血管平滑肌细胞质(图2)。与正常对照组(0.233±0.026)相比,高脂模型组(0.047±0.009)、低剂量apelin组(0.063±0.010)及高剂量apelin组(0.187±0.019)α-SMA表达显著降低($P<0.01$)。与高脂模型组比较,低、高剂量apelin组α-SMA表达显著升高($P<0.01$)。与低剂量apelin组相比,高剂量apelin组α-SMA表达明显升高($P<0.01$)。

2.4.2 p22phox在主动脉上的表达 内膜增厚,隆起的纤维斑块处有大量巨噬细胞及炎症细胞,是氧化应激活跃部位,p22phox染色棕黄色信号主要定位于此处,其余部位表达极少。与正常对照组(0.022±0.004)比较,高脂模型组(0.055±0.012)、低剂量apelin组(0.042±0.009)及高剂量apelin组(0.028±0.006)p22phox表达明显增多($P<0.01$);与高脂模型组相比,低、高剂量apelin组p22phox表达明显减少($P<0.01$);与低剂量apelin组比较,高剂量apelin组信号表达显著减少($P<0.01$),见图3。



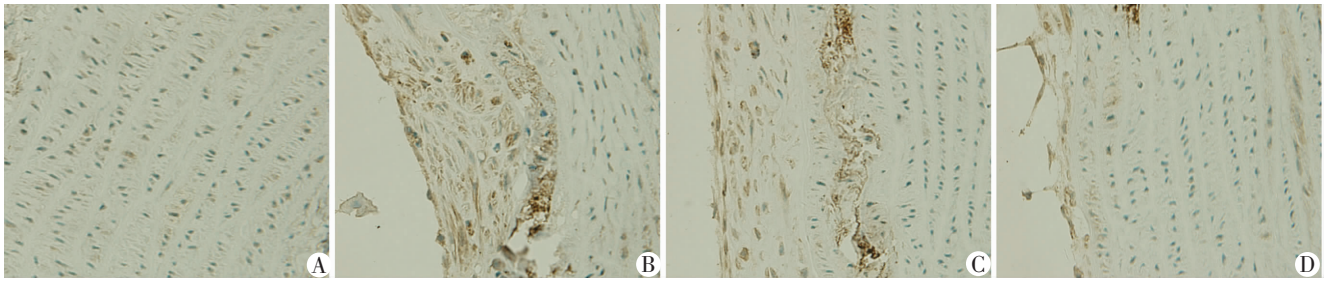
A:正常对照组;B:高脂模型组;C:低剂量apelin组;D:高剂量apelin组

图1 apelin-13干预后12周末各组大鼠主动脉弓处病理形态观察 (HE ×200)



A:正常对照组;B:高脂模型组;C:低剂量 apelin 组;D:高剂量 apelin 组

图 2　apelin-13 干预后 12 周末各组大鼠主动脉弓处 α-SMA 蛋白表达　(S-P ×200)

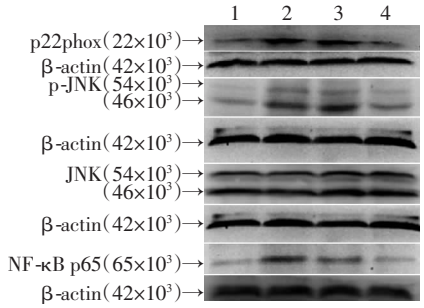


A:正常对照组;B:高脂模型组;C:低剂量 apelin 组;D:高剂量 apelin 组

图 3　apelin-13 干预后 12 周末各组大鼠主动脉弓处 p22phox 蛋白表达(S-P ×400)

2.5　Western blot 检测各组动脉组织中目的蛋白表达

主动脉 p22phox、NF-κB p65 及 p-JNK 在高脂模型组、低剂量 apelin 组及高剂量 apelin 组表达显著高于正常对照组($P<0.01$);p22phox、NF-κB p65 在高、低剂量 apelin 组的表达显著低于高脂模型组;p-JNK 在低剂量 apelin 组及高脂模型组间无差异($P>0.05$);p22phox、NF-κB p65 及 p-JNK 在高剂量 apelin 组的表达较低剂量 apelin 组明显减少($P<0.01$);各组 JNK 表达无明显差异($P>0.05$)。见图 4、表 3。



1:正常对照组;2:高脂模型组;3:低剂量 apelin 组;4:高剂量 apelin 组

图 4　Western blot 检测各组大鼠动脉组织中目的蛋白表达

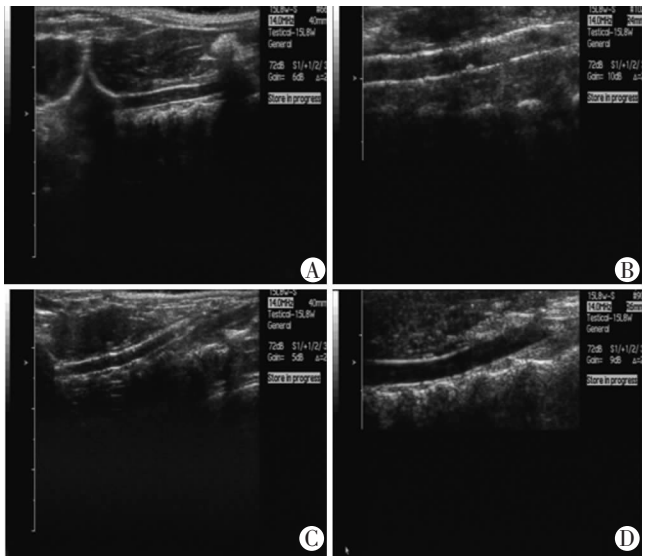
表 3　apelin-13 干预后 12 周末各组大鼠动脉组织 p22phox、p-JNK、JNK 及 NF-kB p65 的表达($\bar{x}\pm s$)

组别	n	p22phox	p-JNK	JNK	NF-κB p65
正常对照组	14	0.171±0.012	0.105±0.032	0.851±0.039	0.132±0.013
高脂模型组	10	0.504±0.056^{a}	0.412±0.036^{a}	0.870±0.032	0.786±0.095^{a}
低剂量 apelin 组	11	0.434±0.047^{ab}	0.408±0.028^{a}	0.861±0.031	0.567±0.054^{ab}
高剂量 apelin 组	13	0.308±0.025^{abc}	0.197±0.016^{abc}	0.863±0.028	0.174±0.020^{abc}

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.01$,与高脂模型组比较;c:$P<0.01$,与低剂量 apelin 组比较

2.6　超声观察各组大鼠腹主动脉病变

正常对照组及高剂量 apelin 组大鼠腹主动脉内膜清晰、光滑、连续,纵切面呈低回声区,前后壁呈两条平行强回声,壁无明显隆起、增厚及斑块形成,高脂模型组及低剂量 apelin 组大鼠腹主动脉内膜欠清晰、不光滑、连续性中断,管壁增厚,可见较小斑块突出于管腔(图 5)。



A:正常对照组;B:高脂模型组;C:低剂量 apelin 组;D:高剂量 apelin 组

图 5　apelin-13 干预后 12 周末各组大鼠腹主动脉超声图像

3　讨论

apelin 是一种由脂肪细胞产生的脂肪素,其可与 G 蛋白受体 APJ 耦联发挥生物效应[1]。apelin 前体肽含有多个氨基酸残基酶切位点,生成的内源性配体中

以长肽 apelin-36 和短肽 apelin-13 较常见。apelin 广泛存在心脏和血管组织,提示其在心血管系统具有重要生物学意义。动脉粥样硬化的形成涉及脂质的氧化浸润、炎症因子的生化效应及活性氧物质氧化应激等各种病理生理过程。近年来,血脂异常作为动脉粥样硬化的独立危险因素已被大众接受。本实验主动脉弓 HE 染色显示,高脂模型组及低剂量 apelin 组于 12 周末形成了明显动脉粥样硬化病理改变,而高剂量 apelin 组仅有轻微内膜增厚,少量纤维增生及炎症细胞浸润等表现。腹主动脉超声检测结果也与上述结果一致,表明了高剂量 apelin-13 能通过阻止 AS 形成的某个病理生理环节从而减缓 AS 的发生、发展。上述研究结果与 Chun 等[12]研究结论一致。但遗憾的是,本实验发现 apelin 并不能改变动脉粥样硬化大鼠血脂紊乱。

在病理状态下,活性氧(ROS)产生过多而超出抗氧化系统的代谢能力时,过多的活性氧就会氧化 DNA、脂质、蛋白质等,形成氧化应激效应[13]。Lassegue 等[14]发现超氧阴离子 O_2^-(ROS 主要来源形式)主要来源于内皮细胞和血管平滑肌中的 NAD(P)H 氧化酶,NAD(P)H 氧化酶是血管平滑肌细胞或内皮细胞产生 ROS 的主要部位,其产生的 ROS 在 AS 发生、发展中起重要作用。而 NAD(P)H 氧化酶的激活与存在于胞浆膜上的 p22phox 亚单位有关,本实验 p22phox 亚基免疫组化染色及免疫印迹得出的结论相同,即 apelin-13 能有效减轻 p22phox 在动脉组织的表达,且以高剂量 apelin-13 作用更显著。MDA 作为脂质过氧化的最终代谢物,能间接反映机体 ROS 的代谢状态;SOD 是一种存在于胞浆和线粒体的抗氧化酶,SOD 的动态变化也能反映机体抗氧化功能。本研究发现高、低剂量 apelin 均能有效降低血清样本的 MDA 且升高 SOD。从上述几个反应氧化应激的指标变化中不难看出,apelin-13 能降低活性氧在动脉粥样硬化大鼠中的氧化应激效应,且高剂量 apelin 作用更明显,提示 apelin-13 可能通过降低氧化应激效应来阻止 AS 的发生、发展。上述研究结果与 Chun 等[9]及 Kojima 等[15]研究结果一致。

血管平滑肌细胞(VSMCs)具有收缩型及增殖型(分泌型)两种表型。AS 病变中主要成分 VSMCs 处于分泌状态(增殖型 VSMCs),具有分裂和增殖能力。其能捕获和储存大量胆固醇和脂质,加剧 AS 的发生、发展,α-SMA 是收缩型 VSMCs 标志物,其在收缩型细胞中大量表达,在增殖型细胞中表达极少[16]。本研究发现在正常对照组及高剂量 apelin 组血管壁中 α-SMA 的表达较高脂模型组与低剂量 apelin 组明显增多,α-SMA 在各组表达量的改变说明了 VSMCs 表型在 apelin-13 多肽的作用下发生了转变,也即是 apelin-13 能抑制平滑肌细胞的增殖。

JNK 信号通路能被应激(氧化、辐射、热休克等)、细胞因子(TNF-α、IL-1 等)及 G 蛋白耦联受体等多种因素活化,该信号通路与细胞的增殖、分化、凋亡等有关[17]。Ricci 等[18]发现:其他实验组小鼠发生 AS 的概率明显高于敲除 JNK2 基因的小鼠,表明 JNK 通路与 AS 有关。通过各种途径激活的 JNK 通路又能诱导 VSMCs 的增殖或凋亡[19-20]。本实验发现在高剂量 apelin 组动脉组织中 p-JNK 表达较高脂模型组及低剂量 apelin 组降低,但 4 组大鼠总 JNK 水平没有统计学差异,表明 JNK 的磷酸化参与了 AS 形成,而高剂量 apelin 能抑制这一磷酸化通路。核转录因子 NF-κB 家族中以亚基 p50 与 p65 组成的异源二聚体具有重要生物学意义。研究发现在 AS 病变中的 VSMCs、内皮细胞及吞噬细胞中均有 NF-κB 的表达。Monaco 等[21]发现抑制 NF-κB 信号通路能降低炎症因子的表达,进而阻止 AS 的发生、发展。Wilson 等[22]证明了 NF-κB 通路的激活介导了 VSMCs 的增殖。上述研究均表明 NF-κB p65 的激活参与了 AS 的形成。在我们的 Western blot 分析中发现,高剂量 apelin 组 NF-κB p65 的表达较高脂模型组及低剂量 apelin 组较明显减少,说明通过注射高剂量 apelin-13 能有效抑制该转录因子的激活,从而减缓 AS 的发生和发展。

综上所述,我们有理由推测 apelin 能有效降低机体活性氧水平,降低氧化应激效应在 AS 发生、发展中所起作用,抑制 VSMCs 表型向增殖型(分泌型)转变,从而减缓 AS 的形成,其可能机制是通过阻止 JNK/NF-κB 信号通路的激活。

参考文献:

[1] Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2008, 10(8): 725-732.

[2] 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.

[3] Llorens-Cortes C, Kordon C. Jacques Benoit lecture: the neuroendocrine view of the angiotensin and apelin systems[J]. J Neuroendocrinol, 2008, 20(3): 279-289.

[4] Thomas M C, Pickering R J, Tsorotes D, *et al*. Genetic Ace2 deficiency accentuates vascular inflammation and atherosclerosis in the ApoE knockout mouse[J]. Circ Res, 2010, 107(7): 888-897.

[5] Zhang C, Zhao Y X, Zhang Y H, *et al*. Angiotensin-converting enzyme 2 attenuates atherosclerotic lesions by targeting vascular cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(36): 15886-15891.

[6] 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.

[7] Kojima Y, Kundu R K, Cox C M, *et al*. Upregulation of the apelin-APJ pathway promotes neointima formation in the carotid ligation model in mouse[J]. Cardiovasc Res, 2010, 87(1): 156-165.

[8] Lu Y, Zhu X, Liang G X, *et al*. Apelin-APJ induces ICAM-1, VCAM-1 and MCP-1 expression *via* NF-κB/JNK signal pathway in human umbilical vein endothelial cells[J]. Amino Acids, 2012, 43(5): 2125-2136.

[9] Chun H J, Ali Z A, 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] 杨鹏远, 芮耀诚, 焦亚斌. 动脉粥样硬化大鼠实验模型的建立[J]. 第二军医大学学报, 2004, 24(7): 802-804.

[12] Chun H J, Ali Z A, Kojima Y, *et al*. Apelin signaling antagonizes ang Ⅱ effects in mouse models of atherosclerosis[J]. J Clin Invest, 2008, 118(10): 3343-3354.

[13] Gamkrelidze M, Mamamtavrishvili N, Bejitashvili N, *et al*. Role of oxidative stress in pathogenesis of atherosclerosis[J]. Georgian Med News, 2008(163): 54-57.

[14] Lassegue B, Clempus R E. Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2003, 285(2): R277-R297.

[15] Kojima Y, Kundu R, Leepern N J, *et al*. Apelin modulates adipocyte and inflammatory cell processes to inhibit atherosclerosis[J]. Circulation, 2009, 120(18): S1064.

[16] 康维强, 宋达琳, 葛志明. 现代分子心血管病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 41-49.

[17] Weston C R, Davis R J. The JNK signal transduction pathway[J]. Curr Opin Cell Biol, 2007, 19(2): 142-149.

[18] Ricci R, Sumara G, Sumara I, *et al*. Requirement of JNK2 for scaven-ger receptor A-mediated foam cell formation in atherogenesis[J]. Science, 2004, 306(5701): 1558-1561.

[19] 韩雅玲, 齐岩梅, 康建, 等. 丝裂原活化蛋白激酶在人冠状动脉平滑肌细胞向三维纤维蛋白胶迁移中的作用[J]. 中国应用生理学杂志, 2005, 21(4): 388-392.

[20] Han Y, Wu G, Deng J, *et al*. Cellular repressor of E1A-stimulated genes inhibits human vascular smooth muscle cell apoptosis *via* blocking P38/JNK MAP kinase activation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 48(6): 1225-1235.

[21] Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, *et al*. Canonical pathway of nuclear factor kappa B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(15): 5634-5639.

[22] Wilson S H, Caplice N M, Simari R D, *et al*. Activated nuclear factor-kappaB is present in the coronary vasculature in experimental hypercholesterolemia[J]. Atherosclerosis, 2000, 148(1): 23-30.

(**收稿**:2014-02-14;**修回**:2014-04-23)

(编辑 栾 嘉)

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母$\bar{x}$,卡方的符号是希腊字母χ^2,自由度的符号是希腊文"υ",不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r",不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号,都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"-"或"+"表示。例如Na^+、Ca^{2+}、P^{3-}等等,不采用Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2}表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角,例如:^{131}I、^{32}P。表示激发状态的m写在右上角,例如:$^{99}Tc^m$、$^{133}In^m$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称,即不能写成^{131}碘、铟^{133m}、P^{32}、Tc^{99m}。

近几年分子生物学发展很快,并已渗透到许多学科,大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式,要对符号的来源及其内涵有深刻的了解,使用时不致发生错误,例如:RNA有rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3类。r、t、m是表示类型的符号应小写,RNA应大写。

本刊编辑部