Apelin/APJ 与胚胎心肌分化

陈海英[1,2] 高连如[1] 张宁坤[1]

(1 海军总医院 北京 100048；2 解放军第 210 医院 辽宁 大连 116021)

摘要：胚胎发育中心脏祖细胞迁移至生心区并分化为心肌细胞是心脏形成的基础。研究心肌分化对了解心脏发育异常以及应用干细胞治疗缺血性心脏病具有重要意义。最近研究发现 apelin/APJ 信号通路与祖细胞的迁移及心肌分化有关。本文就 apelin/APJ 与胚胎心肌分化的关系做一综述。

关键词：Apelin；APJ；心肌分化

中图分类号：Q132.7 **文献标识码**：A **文章编号**：1673-6273(2012)09-1766-03

Apelin/APJ and Embryonic Cardiomyocyte Differentiation

CHEN Hai-ying[1,2], GAO Lian-ru[1], ZHANG Ning-kun[1]

(1 Naval General Hospital, Beijing 100048, China; 2 The 210th Hospital of P.L.A, Dalian 116021, China)

ABSTRACT: That cardiac progenitor cells migrate to the cardiogenic region of the embryo and then differentiate into cardiomyocytes is crucial for cardiac development. Study of cardiomyocyte differentiation is important to understand cardiac development and to apply stem cells in coronary artery heart disease. Recent researches demonstrated apelin/APJ signaling participated in progenitors migration and cardiomyocyte differentiation. Here reviews the apelin/APJ signaling in embryonic cardiomyocyte differentiation.

Key words: Apelin; APJ; Cardiomyocyte differentiation

Chinese Library Classification: Q132.7 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2012)09-1766-03

通过掺入抗菌金属离子而制成的抗菌不锈钢是一种新型多功能材料，具有良好的市场发展前景。其中，Cu 型医用抗菌不锈钢以其优良的抗菌活性，逐渐在越来越多的领域中得到应用[4]，本文在通过对其抗细菌特性进行进一步的研究，为抗菌不锈钢更为广泛的应用提供依据。

1 Apelin/APJ 简介

APJ 受体基因在 1993 年由 O'Dowd 等首次发现[1]。APJ 受体蛋白是具有 7 个跨膜结构的 G 蛋白偶联受体家族成员之一，由 380 个氨基酸残基组成，在整个序列中有 115 个氨基酸残基（30%）、在跨膜区有 88 个氨基酸残基（54%）与血管紧张素Ⅱ1 型受体相同，因此被称为血管紧张素受体 AT1 相关受体蛋白，或血管紧张素Ⅱ受体样 -1（Agtrl1），在非洲蟾蜍中被称为 Xmsr。但 AGⅡ并不与 APJ 结合，直到 1998 年，Tatemoto 等[2]才从牛胃的分泌物中提取并纯化出 APJ 的天然配体 apelin。Apelin 是一类由 77 个氨基酸构成的原前体肽被血管紧张素转换酶 2 降解后产生的具有生物活性的多肽，由 42-77 氨基酸组成的 Apelin-36 和由 65-77 氨基酸组成的 apelin-13 是两个主要的最具生物活性的类型[2,3]。

Apelin/APJ 分布广泛，在成体内，在中枢和外周神经系统、胃肠道、脂肪组织、肺、肝、肾和平滑肌等均有表达，参与调节体液平衡、糖代谢、摄食行为，血管生成、细胞增殖和免疫。在心血管系统有高表达，在调节血压和心肌收缩力方面具有重要作用[4]。在胚胎发育和出生后的生长发育中，apelin/APJ 信号通路与血管生成有关[5-7]。最近研究表明 apelin/APJ 与胚胎心肌分化有关。

2 Apelin/APJ 在胚胎发育中的表达

2.1 Apelin/APJ 在胚胎发育中的时空分布

小鼠胚胎发育原肠胚期 apelin 表达在发育中的原始条纹处，APJ 表达在原始条纹和邻近侧板中胚层处，与调控心脏分化的 Cripto 蛋白（表皮生长因子 CFC 家族成员）表达部位一致[8]，第 8 天 APJ 就开始在侧板中胚层表达，在小鼠胚胎发育过程中，初级血管的内皮细胞和形成中的心脏均可以检测到 APJ 的转录[9,10]。斑马鱼胚胎在受精后 4.5 h，胚盘边缘的中胚叶祖细胞就开始表达 APJ，在原肠胚期和体节期，APJ 表达在近轴区、中间区和侧板中胚层，这些部位是心脏祖细胞所在的位置，在晚期体节期，心脏形成区域 APJ 与心脏标志基因心脏肌球蛋白轻链同时表达；而 apelin 的转录是从原肠胚中期开始的，仅在轴旁中胚层及由他发育而来的脊索处表达，在晚期体节期，新出现的表达部位与其受体 APJ 一样分布于可能形成心脏的区域[11]。最近，美国国家研究中心、威辛康森大学等多家联合研究发现 APJ 阳性胚胎干细胞富含侧板 / 胚外中胚层的基因表达谱，是代表侧板中胚层的祖细胞[12]，而心肌细胞是由侧板中胚层细胞分化而成。Apelin/APJ 在时间和空间分布上的变化表明其与心肌分化有关。

2.2 胚胎发育中 apelin/APJ 的表达调节

Apelin 和 APJ mRNA 在 Cripto-/- 胚胎干细胞和胚胎体中的表达明显低于其在野生型胚胎干细胞和胚胎体中的表达，但当 Cripto-/- 胚胎体暴露于重组 Cripto 24 h 后，apelin 和 APJ mRNA 表达上调，说明胚胎中胚层 apelin/APJ 的表达是 Cripto

作者简介：陈海英（1972-），女，博士，主治医师，研究干细胞及其应用。E-mail:jjhchy@163.com

（收稿日期：2011-06-26 接受日期：2011-07-23）

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

依赖性的，进一步研究证实 Cripto 通过激活 Smad2 诱导 apelin/APJ 表达[8]。APJ 通路的激活也可诱导 apelin 表达，说明 apelin 与 APJ 是正反馈相互作用[8]。

3 Apelin/APJ 对心肌分化的影响

3.1 APJ 对心肌分化的影响

Scott IC 等[13]研究发现，斑马鱼 APJs608 隐性突变可引起心脏明显变小，APJs608 显性型者心脏发育受影响，大多数的极端情况是心脏肌球蛋白轻链 -2（CMLC2）阳性的心肌细胞数量极少甚至缺失，而且，APJ 基因变异的影响仅限制于胚胎侧板中胚层的心肌细胞系，内胚层、侧板中胚层后部、脉管系统及体节中胚层未受影响，进一步研究发现，APJ 变异使 NKX2.5 表达明显下降，但已形成的心肌细胞的进一步发育并不受影响，说明 APJ 是侧板中胚层前部 Nkx2.5 心脏祖细胞形成所必需的，APJ 变异影响干细胞早期向心肌的分化。在斑马鱼胚胎中，如将 APJ 受体基因删除，则出现心肌前体细胞数目减少，心肌组织结构缺如。Inui M 等[14]应用吗啉代反义寡核苷酸干扰非洲蟾蜍胚胎 APJ 的表达，发现心肌细胞标志 cTnI 表达明显减弱，心肌分化受损。

3.2 Apelin 对心肌分化的影响

外源性给予 apelin mRNA 严重影响斑马鱼心肌的分化，表现为 CMLC2、Nkx2.5 表达下降，但是却不影响其他中胚层细胞的发育（如血细胞、骨骼肌细胞和脉管系统细胞）[13]。Zeng 等[11]研究也发现如将 apelin 过表达，则原肠胚受损，心肌细胞的特异分化完全破坏，如局部 apelin 缺乏，则心脏前体细胞不能到达特定的生心区，即胚胎前侧中胚叶区域，进而影响心脏的发育。

上述研究表明，APJ 阳性干细胞具有心肌细胞分化潜能，apelin/APJ 在心肌形成中具有重要作用。但在研究 apelin/APJ 对心血管的调节作用时，Charo 等[15]发现 APJ 缺陷小鼠大部分有心血管发育异常，而 apelin 缺陷小鼠心脏发育正常，推测可能存在其他的 APJ 配体，或非配体依赖的作用。也有研究表明 apelin 或 APJ 缺陷小鼠心脏发育正常[16,17]，但这些研究没有针对心肌分化，因此，进一步研究 APJ 阳性干细胞在体内、外的心肌分化潜能十分必要；也可能是因为在小鼠中存在与 apelin/APJ 功能相似的基因，这还需要更多针对性的研究来证实。

4 Apelin/APJ 影响心肌分化的机制

胚胎心脏发生是心脏祖细胞在原肠胚期向中线迁移并延伸，进而分化为心肌和血管。Apelin/APJ 信号通路既可以引导心脏祖细胞到达胚胎正确的位置，同时又可以促进祖细胞向心肌分化。

首先，apelin 可能作为趋化因子提供祖细胞迁移的信号。在胚胎发育的原肠胚期，其梯度变化驱使具有心血管细胞分化潜能的表达 APJ 受体的祖细胞到达特定的生心区，即侧板中胚层。局部缺少 apelin 不能使具有心肌分化潜力的细胞到达指定的位置；而外源性给予 apelin mRNA 时，侧板中胚层前部（ALPM）的形态发生明显变化，ALPM 不完整，有些细胞从 ALPM 旁边突出，在联合注射 apelin-MO 时，则无上述异常，表明过表达 apelin，具有心肌分化命运的细胞也不能到达正确的位置；异常的 APJ 配体的表达会扰乱内源的趋化因子梯度，进而导致心脏祖细胞迁移的失败[13]。说明 apelin/APJ 信号通路决定着心脏祖细胞的迁移。

其次，Apelin/APJ 可能是以自分泌的形式参与心肌形成。Ashley[10]等发现小鼠胚胎心肌中有 apelin/APJ mRNA 和蛋白表达，且其表达贯穿心脏发育的全过程，而在成体小鼠心肌中只有 APJ 的表达。我们在研究 apelin/APJ 信号通路在成体干细胞向心肌细胞分化中的变化，发现骨髓间充质干细胞在体外 5-氮胞苷诱导下及体内心肌梗死模型上，被诱导的心肌样细胞在表达心肌特异标志肌钙蛋白、肌动蛋白、GATA-4、connexin-43 等同时动态高表达 apelin 蛋白、APJ 和 apelin mRNA，证明成体干细胞向心肌细胞分化中也有 apelin/APJ 信号通路存在与调控[18]。上述实验表明自分泌在 apelin/APJ 信号促进心肌分化中起重要作用。

最后，apelin/APJ 信号通路作为 Cripto/Smad2 下游的效应因子，通过激活细胞外调控激酶（ERK）调控心肌细胞特异分化[8]。Cripto 可激活 Nodal-GDF1-3/ALK-4/Smad2 通路，Smad 2 的激活是中内胚层形成及心肌分化所必需的[19]。Smad 2 的激活可诱导 apelin/APJ 的表达。Cripto-/- 小鼠 ESCs apelin/APJ 表达几乎测不出，而且不会分化成心肌细胞，Cripto-/- 小鼠也不会有心肌分化的迹象，但通过转染使 APJ 过表达会促使 Cripto-/- 胚胎干细胞获得心肌分化能力，诱导心脏形态学发生所必需的最早的心脏转录因子 Mesp1 表达[8,20]，说明 apelin/APJ 信号通路作为 Cripto/Smad2 下游的效应因子促进干细胞的心肌分化。进一步研究表明 ERKs 特异性抑制剂 U0126 不仅抑制 p70S6K 磷酸化，而且抑制 apelin 诱导的心肌细胞分化，说明 apelin/APJ 通过激活 ERKs 诱导 p70S6K 磷酸化促进心肌细胞分化。p70S6K 有调节细胞周期的作用[21]，是细胞生长、增殖的关键调节因子，促进蛋白质的合成，可能是这种促有丝分裂作用促进心肌细胞分化。

5 结论与展望

综上所述，胚胎发育中，APJ 阳性胚胎干细胞在 apelin 的作用下可迁移至心脏形成区域侧板中胚层，进而通过 apelin/APJ 信号通路激活 ERKs，使干细胞分化为心肌细胞。APJ 表达降低，apelin 表达增高或降低均可影响胚胎心肌分化，由此可见，APJ 阳性中胚层祖细胞可能为心脏祖细胞，apelin/APJ 通路与心脏祖细胞的迁移及向心肌分化密切相关。但 apelin/APJ 在胚胎心脏发育中的作用研究还很少，更广泛、更深入研究其在哺乳动物胚胎心脏发育中的作用，对于了解心脏发育异常以及应用干细胞治疗缺血性心脏病可能会具有重要的意义。

参考文献(References)

[1] O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, et al. A human gene that shows identity with the gene encodingthe angiotensin receptor is located on chromosome 11[J] . Gene, 1993, 136: 355-360

[2] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor [J]. Biochem Biophys Res Commun,

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1998, 251(2): 471-476

[3] Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin [J]. J Biol Chem, 2000, 275(28): 21061-21067

[4] **张志, 于波**. Apelin/APJ **信号在心血管系统的生理和病理生理作用** [J]. **国际心血管病杂志**, 2008, 35(5): 284-286
Zhang Zhi, Yu Bo. Pathophysiologic effects of Apelin/APJ signal in cardiovascular system[J]. International Journal of Cardiovascular Disease, 2008, 35(5): 284-286

[5] Kasai A, Shintani N, Oda M, et al. Apelin is a novel angiogenic factor in retinal endothelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 325(2): 395-400

[6] Saint-Geniez M, Masri B, Malecaze F. et al. Expression of the murine msr/apj receptor and its ligand apelin is upregulated during formation of the retinal vessels[J]. Mech Dev, 2002, 110(1-2): 183-186

[7] K lin RE, Kretz MP, Meyer AM, et al. Paracrine and autocrine mechanisms of apelin signaling govern embryonic and tumor angiogenesis [J].Dev Biol, 2007, 305(2): 599-614

[8] D'Aniello C, Lonardo E, Iaconis S, et al. G protein-coupled receptor APJ and its ligand apelin act downstream of Cripto to specify embryonic stem cells toward the cardiac lineage through extracellular signal-regulated kinase/p70S6 kinase signaling pathway [J]. Circ Res, 2009, 105(3): 231-238

[9] Devic E, Rizzoti K, Bodin S, et al. Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of Xenopus X-msr and human APJ[J]. Mech Dev, 1999, 84: 199-203

[10] Ashley EA, Powers J, Chen M, et al. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo[J]. Cardiovasc Res, 2005, 65(1): 73-82

[11] Zeng XX, Wilm TP, Sepich DS, et al. Apelin and its receptor control heart field formation during zebrafish gastrulation[J]. Dev Cell, 2007, 12(3): 391-402

[12] Vodyanik MA, Yu J, Zhang X, et al. A mesoderm-derived precursor for mesenchymal stem and endothelial cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(6): 718-729

[13] Scott IC, Masri B, D'Amico LA, et al. The G protein coupled receptor agtrl1b regulates early development of myocardial progenitors. Apelin and its receptor control heart field formation during zebrafish gastrulation[J]. Dev Cell, 2007, 12(3): 403-413

[14] Inui M, Fukui A, Ito Y, et al. Xapelin and Xmsr are required for cardiovascular development in Xenopus laevis [J]. Dev Biol, 2006, 298 (1): 188-200

[15] Charo DN, Ho M, Fajardo G, et al. Endogenous regulation of cardiovascular function by apelin-APJ [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 297(5): H1904-1913

[16] Kuba K, Zhang L, Imai Y, et al. Impaired heart contractility in apelin gene-deficient mice associated with aging and pressure overload [J]. Circ Res, 2007, 101: e32-e42

[17] Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, et al. Regulatory roles for APJ, a seven-Transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo [J]. J Biol Chem, 2004, 279: 26274-26279

[18] Gao LR, Zhang NK, Bai J, et al. The apelin-APJ pathway exists in cardiomyogenic cells derived from mesenchymal stem cells in vitro and in vivo[J]. Cell Transplant, 2010, 19(8): 949-958

[19] Kitamura R, Takahashi T, Nakajima N, et al. Stage-specific role of endogenous Smad2 activation in cardiomyogenesis of embryonic stem cells[J]. Circ Res, 2007, 101: 78-87

[20] David R, Brenner C, Stieber J, et al. MesP1 drives vertebrate cardiovascular differentiation through Dkk-1-mediated blockade of Wnt-signalling[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10: 338-345

[21] Eyries M, Siegfried G, Ciumas M, et al. Hypoxia-induced apelin expression regulates endothelial cell proliferation and regenerative angiogenesis[J]. Circ Res, 2008, 103: 432-440

(上接第 1754 页)

[11] J Millet-Roig, R Ventura-Galiano, F J Chorro-Gasc6, et al. Support vector machine for arrhythmia discrimination with wavelet transform-based feature selection [J]. Computers in Cardiology, 2000, 27, 407-410

[12] **李盼池,许少华. 支持向量在模式识别中的核函数特性分析** [J].**计算机工程与设计**,2005,26 (2):302-304
Li PC, Xu SH. Support vector machine and kernel function characteristic analysis in pattern recognition. Computer Engineering and design 2005; 26:302-304

[13] The package canbe download on the website http://luzhenbo.88uu.com.cn/

[14] Lin Shengliang, Liu Zhi, Parameter Selection in SVM with RBF Kernal Function [J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2007, 35 (2) :163-167

[15] X. Zhang, Y. Zhu, N. Thakor, et al. Detecting ventricular tachycardia and fibrillation by complexity measure [J]. IEEE Trans. Biomed. Eng, 1999, 46(1): 548-55

[16] Qun L, Jie Zhao, YN Zhao, et al. Detection of ventricular fibrillation by support vector machine algorithm [C]. Proceedings of the 2009 International Asia Conference on Informatics in Control, Automation and Robotics(IEEE), 2009, 287-290

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net