

综述

Apelin在多囊卵巢综合征中的作用机制

周建华, 郭 英, 夏 悦, 刘虹麟, 谢佳妮, 王奕力, 倪晓容*

(上海中医药大学附属市中医医院, 上海 200071)

摘要: 多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是育龄女性常见的一种以生殖障碍为主要表现的异质性代谢性疾病, 患者常存在脂肪组织功能障碍, 表现为脂肪因子的异常分泌。异常分泌的脂肪因子可通过干扰性腺轴紊乱内分泌系统影响女性生殖。脂肪因子Apelin在PCOS女性的血液、卵泡液、颗粒细胞、黄体中存在差异表达, 参与调控PCOS内分泌代谢及卵泡发育, 可能是PCOS有效的干预靶点。本文从PCOS的代谢及卵巢功能两方面总结了Apelin的相关功能调控及机制研究, 以期以Apelin为靶点的PCOS药物研发及进一步的机制研究提供思路 and 理论依据。

关键词: 多囊卵巢综合征; Apelin; APJ; 脂肪因子

The mechanism of Apelin in polycystic ovary syndrome

ZHOU Jianhua, GUO Ying, XIA Yue, LIU Honglin, XIE Jiani, WANG Yili, NI Xiaorong*

(Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of
Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China)

Abstract: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common heterogeneous metabolic disease in women of childbearing age with reproductive disorders as the main manifestation. Patients commonly have adipose tissue dysfunction, which is manifested as abnormal secretion of adipokines. Abnormally secreted adipokines disrupt the endocrine system via crosstalk with the gonadal axis, thereby impairing female reproduction. The adipokine Apelin is differentially expressed in the blood, follicular fluid, granulosa cells and corpus luteum of women with PCOS. It participates in regulating endocrine metabolism and follicular development of PCOS, suggesting its potential as a promising therapeutic target for PCOS. This review summarizes the regulatory roles and molecular mechanisms of Apelin in PCOS metabolism and ovarian function to provide ideas and theoretical foundations for the development of PCOS drugs and further mechanism studies.

Key Words: polycystic ovary syndrome; Apelin; APJ; adipokine

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种以胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、高雄激素水平为主要特征的生殖代谢性疾病, 常有月经紊乱、稀发排卵、不孕等生殖障碍表现, 影响全球11%~13%的育龄女性^[1]。据统计, 50%~

80%的PCOS女性伴有肥胖体征, 以腹型肥胖为主^[2], 表明PCOS患者存在脂肪组织功能障碍。脂肪组织功能障碍主要表现为脂肪因子异常分泌和慢性低度炎症^[3]。近年来的研究显示, 脂肪因子的异常分泌与PCOS密切相关^[4]。Apelin作为一种新型

收稿日期: 2024-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(81804136); 上海医学创新发展基金“未来计划”中医药科技发展项目(WL-HBMS-2021003K); 上海医学创新发展基金“未来计划”传统中医技术传承项目(WLJH2022ZY-ZYY005)

第一作者: Email: 985934270@qq.com

*通信作者: Email: lily2060@outlook.com

脂肪因子, 多数研究证明其在PCOS患者血清中的含量显著升高, 在PCOS的发生进程中扮演重要角色, 可能是PCOS潜在的重要干预靶点。但目前Apelin对PCOS的影响尚不明晰, 为进一步探究Apelin与PCOS的进程关系, 现从Apelin的结构功能、PCOS不同表征下的Apelin相关研究、卵巢功能等方面进行分析综述, 以期PCOS的临床诊治提供理论基础, 开拓科研思路。

1 Apelin的概述

1.1 Apelin的来源与结构

Apelin是Tatemoto等^[5]率先以反向药理学的方法在牛胃中纯化分离出的一种新型活性肽, 后经Boucher等^[6]证实, 其本质是一种由脂肪细胞分泌的脂肪因子。Apelin位于人类X染色体(Xq25-q26.1)的长臂上, 有2个内含子和3个外显子, 由人类*APLN*基因编码, 故也称*APLN*, 其mRNA长度为3 125 bp。Apelin的cDNA编码77个氨基酸残基组成Apelin前体蛋白, 其N末端富含疏水氨基酸, 表明N末端含有分泌信号序列; C末端富含碱性氨基酸残基, 是翻译加工中潜在的裂解位点^[5]。由于牛和人的C末端27个氨基酸残基结构相同, 且Apelin前肽在人与大鼠中有82%的同一性, 提示C末端结构可能在不同物种之间是保守的^[5,7]。经蛋白水解酶酶切后, C末端可裂解成不同长度的功能异构体, 包括Apelin-36、Apelin-17、Apelin-13、Apelin-12等, 表明Apelin序列存于C末端^[8]。较短的Apelin异构体常表现出更显著的生物活性, 但其在体内的半衰期较短, 经修饰后可增强稳定性, 如焦谷氨酰化[Pyr1]-Apelin-13。因此, 目前关于Apelin-13及[Pyr1]-Apelin-13的研究最为广泛^[9]。

1.2 Apelin的受体结构

APJ是于1993年发现的一种未明确内源配体的G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)^[10]。因APJ与血管紧张素Ⅱ1型受体存在30%~54%的相似序列, 但不与血管紧张素Ⅱ结合, 被认为是一种孤儿受体。后来研究者发现, APJ的内源性配体是Apelin, 故APJ也称Apelin受体(Apelin receptor, APLNR)。人类的*APJ*定位于染色体11q12上, 与大鼠的*APJ*有74%序列相似性^[10]。APJ受体蛋白由380个氨基酸组成, 拥有GPCR特有

的7个疏水跨膜单位, 存在被环磷酸腺苷依赖性蛋白激酶A磷酸化、棕榈酰化和糖基化的位点^[10]。功能上, APJ可通过细胞外环区域与N端链形成二硫键, 与跨膜结构域螺旋接触形成二聚体, 细胞内环区域与 β -阻滞蛋白等相互作用, 灵活识别结合配体, 并通过配体非依赖的方式对机械刺激做出反应, 进而激活GPCR系列信号通路, 参与生物体多方面的病理生理发展^[11]。

1.3 Apelin/APJ的分布及功能

Apelin/APJ在脑、甲状腺、心、肺、乳腺、胃、肾、脂肪组织、卵巢、子宫、胎盘、睾丸等组织器官中广泛分布^[10,12]。Apelin通过结合APJ, 可调控磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)、腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、c-Jun N端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)等多种转导通路, 参与机体能量代谢、炎症反应、体液平衡、调节食物摄入、血管生成、糖脂代谢、神经保护等生理功能, 以及心血管、糖尿病、肥胖等代谢相关疾病的发生发展^[13,14]。基于Apelin在下丘脑、垂体、卵巢中的特异性表达, 推测Apelin可能参与生殖功能调控, 与PCOS的病理发展有关。

2 Apelin在PCOS中差异表达的相关研究

Apelin在PCOS患者血清或血浆中存在差异表达。多数研究认为, Apelin及其亚型(Apelin-36、Apelin-13)在PCOS中表达升高^[15-17], 且高水平的Apelin与PCOS月经不调、多毛症、卵巢囊泡、睾酮和血糖水平紊乱密切相关^[18]。然而也有部分研究认为, Apelin在PCOS中表达降低, 且Apelin水平约为正常女性的1/5^[19]。甚至也有研究认为, Apelin与PCOS之间并无关系^[20]。部分研究结果的不一致性可能与年龄、样本量、实验设计、Apelin不同亚型、PCOS本身的异质性等有关。为探究Apelin在PCOS发生发展中的研究意义, 下文将从Apelin与PCOS不同表征(肥胖、IR、高雄激素

水平、低度炎症、卵巢功能等)的关联研究展开综述。

2.1 Apelin与PCOS肥胖

肥胖是PCOS常见的临床表征之一,即使是非肥胖的PCOS患者,其内脏脂肪含量也较常人更高^[21],说明PCOS患者存在脂肪组织功能障碍。研究表明,PCOS患者身体各部位的脂肪含量均高于健康女性,而骨骼肌含量降低^[15]。特别是体脂百分比>35%或体重指数(body mass index, BMI)>30的PCOS患者,其Apelin-36水平更高^[15,22]。Apelin水平与BMI、腰臀比、无脂肪质量指数、体脂百分比、脂肪质量指数及内脏脂肪水平呈正相关,与极低密度脂蛋白直接相关^[15,22]。进一步说明Apelin与PCOS的脂肪组织功能障碍关系密切。此外,肥胖引起的肝脂肪变性和IR会减少性激素结合球蛋白(sex hormone-binding globulin, SHBG)合成。SHBG作为雄激素的特异性结合转运载体,其含量降低会使游离雄激素水平升高,从而加重PCOS的激素紊乱并间接促进脂肪堆积。研究发现,PCOS中SHBG水平与Apelin-36、Apelin-12水平呈正相关,一定程度上说明Apelin可能参与脂肪组织功能障碍而诱发PCOS^[23]。

在卵泡发育过程中,卵泡液中适当的脂质水平可以促进卵母细胞成熟,而过多的脂质则会降低卵泡成熟率。一项基于综合脂质代谢组学和蛋白质组学的研究显示,PCOS患者的卵泡液中存在甘油脂质、甘油磷脂质和鞘脂等脂质代谢障碍,可能导致卵泡发育受阻^[21]。肥胖PCOS患者的卵泡液和颗粒细胞(granulosa cells, GCs)中Apelin的表达显著高于非肥胖患者,并与BMI和卵泡计数呈正相关^[24]。这表明Apelin可能在脂代谢异常的环境下,影响卵泡的成熟发育,从而诱发多囊卵巢。因此,Apelin可能在肥胖PCOS的病理发展中扮演了重要角色。

2.2 Apelin与PCOS-IR

PCOS患者中约74.9%表现出IR特征^[25]。IR作为PCOS发病的中心环节,会加剧患者代谢和激素紊乱,从而增加远期并发症的风险。近年来,研究揭示Apelin与胰岛素之间存在双向调节机制。在正常生理条件下,Apelin能强化骨骼肌和脂肪组织对葡萄糖的摄取,发挥降血糖作用;而在IR状态

下,Apelin则能补偿胰岛素和葡萄糖水平的分泌,维持葡萄糖稳态。因此,Apelin在PCOS-IR中可能也有类似作用。

为了验证这一假设,研究者对PCOS-IR及PCOS非IR患者进行了代谢水平及关联性研究。结果发现,IR组患者的Apelin-13、转化生长因子 β 1、糖脂代谢及性激素水平显著升高,而SHBG水平降低,且Apelin-13与空腹胰岛素、胰岛素抵抗稳态模型(homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR)、糖化血红蛋白、甘油三酯呈正相关,对PCOS-IR预测具有较高的特异度和敏感度^[26,27]。提示Apelin与PCOS-IR严重的内分泌紊乱密切相关,并对PCOS-IR具有较好的预测价值。然而,也有研究显示,Apelin在PCOS-IR与PCOS非IR患者中无显著差异^[20];或Apelin与BMI、血糖、HOMA-IR无显著相关性^[28],不一致的关联性结果可能与年龄和样本量有关。经二甲双胍或联合屈螺烯酮-乙炔雌二醇治疗后,PCOS患者的Apelin水平下降,IR和胰岛素敏感性得到改善^[29,30]。类似地,痰湿型PCOS常伴有严重的IR,经中药验方苍附导痰汤治疗6个月后,有效降低了患者的Apelin、HOMA-IR水平,进而改善排卵情况^[31]。因此,PCOS中Apelin的升高可能是机体适应IR的代偿性增加,以调节糖代谢水平,但目前仍缺乏Apelin作用于PCOS-IR靶点机制的研究报道。

2.3 Apelin与PCOS高雄激素水平

高雄激素水平是PCOS发病的主要特征性表现之一。研究显示,PCOS患者卵泡液中卵泡膜细胞合成的雄激素浓度(17OH-孕烯醇酮、脱氢表雄酮、 Δ 4-雄烯二酮、睾酮)显著高于肾上腺源性雄激素,且与Apelin等脂肪因子呈正相关,揭示了PCOS特征性高雄激素主要来源于卵泡膜细胞^[32]。此外,Apelin与睾酮水平升高独立相关^[18],暗示Apelin可能在PCOS的高雄激素血症发病机制中发挥关键作用。另有研究指出,PCOS卵泡液中Apelin水平与卵泡计数、卵母细胞、胚胎数量呈正相关;GCs中Apelin mRNA的表达与循环持续时间正相关,与血浆雌二醇(estradiol, E_2)、促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH)浓度呈负相关;APJ表达及相关性差异与Apelin类似^[24]。 E_2 与FSH常协同

调节卵泡发育、成熟及排卵,高水平的雄激素可拮抗或干扰这一协同作用。由于Apelin水平与雄激素水平正相关,Apelin/APJ轴可能通过调控机体的类固醇分泌,参与PCOS卵巢的病理生理发展。

2.4 Apelin与PCOS低度炎症

PCOS存在低度炎症,表现为C反应蛋白、白介素-18(interleukin-18, IL-18)、肿瘤坏死因子、IL-6、白细胞计数、单核细胞趋化蛋白-1和巨噬细胞炎症蛋白-1 α 等多种炎症因子水平升高^[33]。此外,脂肪因子产生的促炎反应可导致PCOS卵巢中巨噬细胞和淋巴细胞的募集显著增强,激活卵巢组织的慢性炎症反应,促进卵泡液中炎性介质增加,进而抑制卵巢颗粒细胞的增殖代谢,造成排卵障碍^[34]。现有的文献研究指出,Apelin的缺乏或过多与炎症的发生密切相关,且Apelin/APJ可通过调控NF- κ B/JNK、ERK1/2、AMPK、Akt/PI3K等信号通路参与心血管系统疾病、肝肾疾病、神经系统疾病、炎症性肠道疾病、胰腺炎、肺损伤、衰老、肥胖等多种疾病的炎症调节,提示Apelin/APJ可作为炎症相关疾病的干预靶点^[13]。临床相关研究显示,PCOS不孕患者的Apelin、IL-18水平明显高于非PCOS不孕者,且这一表现在肥胖型PCOS不孕者中更为显著^[35]。但经枸橼酸氯米芬胶囊或联合促排卵汤干预3个月经周期后,Apelin、IL-18水平下降,并伴随PCOS症状的改善^[36,37]。由此推测,Apelin可能在PCOS中存在过度激活,进而介导了PCOS的炎症发展,也可能是Apelin为适应PCOS炎症反应的代偿性升高,但其中的具体机制仍需通过PCOS炎症相关的基础实验研究加以探索验证。

3 Apelin与卵巢功能

3.1 卵泡发育

GCs环绕在卵母细胞周围,为其传递营养物质,以支持卵泡的发育。而Apelin/APJ在GCs中表达丰富,能够影响GCs的功能及激素分泌。研究表明,Apelin/APJ在人黄素化颗粒细胞、卵丘细胞、卵泡膜细胞和卵母细胞中均有表达^[38],在动物的GCs、卵泡膜细胞和黄体细胞中亦存在定位,且其表达丰度在优势卵泡中最为显著^[39]。这表明Apelin/APJ对卵泡的成熟发育可能是至关重要的。此外,以不同浓度的Apelin外源性干预GCs 48 h,

可促进GCs分泌E₂,增加细胞色素P-450芳香化酶CYP19A1、细胞周期相关蛋白的表达,降低凋亡蛋白酶Caspase 3、转录因子Foxo1a的表达,并时间依赖性地增强GCs的增殖效应^[39,40]。另外,不同亚型的Apelin对促凋亡蛋白BAX的影响各异,但均可增强GCs的增殖和抗氧化能力,调节卵泡功能,且APJ拮抗剂ML221验证了这一作用^[41]。进一步的研究发现,Apelin通过促进3 β -羟基类固醇脱氢酶(3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, 3 β -HSD)蛋白表达和激活MAPK3/1、Akt通路,增加胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF1)诱导的GCs类固醇生成,从而影响卵泡微环境的激素水平^[38]。由此可见,Apelin/APJ在卵泡发育和GCs功能方面有重要影响。

Apelin/APJ与PCOS卵泡的异常发育密切相关。研究表明,卵泡液中的Apelin可能部分来源于GCs,并以旁分泌和/或自分泌方式影响GCs本身,且卵泡液和GCs中的Apelin/APJ表达都与窦卵泡计数呈正相关,提示Apelin可能在多囊卵巢的卵泡生长停滞中起关键作用^[24]。PCOS患者卵泡液中的Apelin浓度和GCs中的Apelin、APJ mRNA表达均显著高于对照组^[38],表明Apelin/APJ可能与PCOS的多囊卵巢表征相关。为验证这一假设,动物实验显示,Apelin/APJ在PCOS大鼠中表达升高;正常大鼠注射外源性Apelin13(50 μ g/kg/d) 21 d后,出现与PCOS大鼠相似的体重、卵巢形态、代谢水平改变及动情周期紊乱,而经APJ拮抗剂F13A干预,PI3K/Akt/Foxo1通路被部分抑制后,PCOS症状得以改善^[17],说明过量的Apelin/APJ可能参与PCOS卵泡的异常发育,导致多囊表征。通过比较PCOS患者与正常人的卵泡液细胞外囊泡的微小RNA(microRNA, miRNA)和蛋白质表达谱,发现卵泡液细胞外囊泡中miRNA和蛋白质表达失调,涉及激素代谢、胰岛素分泌、神经递质调控、脂肪因子表达和分泌等方面^[42]。差异表达的miRNA靶基因主要参与雌激素、促性腺激素释放激素和Apelin信号通路,通过影响激素代谢参与PCOS发展^[42],进一步验证了Apelin通路参与PCOS卵泡发育的紧密关联。因此,Apelin/APJ可能在PCOS中以时间依赖性代偿增加,打破GCs增殖与凋亡的平衡,进而影响卵泡发育,引发卵巢病理改变,而Apelin的不

同亚型可能具有不同的作用机制。

靶向干预Apelin可调节GCs的增殖、凋亡平衡。Du等^[43]的研究表明, PCOS患者卵泡液中Apelin/APJ表达增加而miR-424表达下调, miR-424可直接靶向Apelin/APJ基因的3'UTR区域, 抑制Apelin/APJ及其下游细胞周期蛋白CCND1、CCNE和磷酸化ERK1/2的表达, 同时促进Caspase 3表达, 从而抑制GCs增殖和细胞周期进程, 遏制人卵巢细胞的过度增殖。类似地, miR-16过表达或Apelin-13敲低后, GCs增殖受到抑制, 细胞凋亡增强; Apelin-13的过表达可以部分逆转miR-16过表达对GCs增殖和凋亡的影响, 表明miR-16可靶向抑制Apelin-13介导的PI3K/Akt通路, 调控PCOS进展^[44]。随着环状RNA(circRNA)研究的兴起, 发现circRNA/miRNA/mRNA网络对于GCs生长存在靶点调控, circ_0043314可特异性结合miR-146b-3p, 上调PCOS中miR-146b-3p靶基因Apelin-13的水平, 从而促进GCs增殖, 抑制细胞凋亡, 加剧PCOS进展, 而GCs中敲低circ_0043314或过表达miR-146b-3p可促进细胞凋亡^[45]。此外, 体内研究显示, 外源性Apelin及ML221均可通过抑制APJ来改善来曲唑诱导的PCOS样特征, Apelin可抑制PCOS的氧化应激和细胞凋亡, 而ML221则相反^[46], 意味着两者可能具有不同的改善机制。由此可见, Apelin/APJ可能是PCOS卵泡发育调节的关键靶点。

3.2 黄体功能

黄体是卵巢中具有内分泌功能的短暂腺体, 主要分泌雌孕激素, 在月经周期及妊娠中起关键作用。研究表明, Apelin/APJ可能以自分泌或旁分泌的形式参与黄体的血管形成、成熟和维持, 伴随优势卵泡的选择和成熟^[39]。PCOS不良的妊娠结局与黄体功能不全(luteal phase defect, LPD)密切相关, PCOS本身的糖脂代谢紊乱可影响孕酮分泌, 诱发LPD, 降低子宫内膜分泌性, 引起受精卵着床障碍、流产、月经紊乱等生殖问题。研究发现, Apelin/APJ在黄体中晚期的表达高于早期和退化期, Apelin-13干预黄体细胞48 h后, 可显著促进孕酮分泌和3 β -HSD表达^[39], 有助于维持黄体功能。此外, Apelin-13和Apelin-17可剂量依赖性刺激IGF1增加E₂和孕酮分泌, 提高CYP19A1、类固醇激素合成急性调节蛋白(steroido genic acute

regulatory protein, STAR)的表达^[41,47], 并通过PI3K/Akt通路响应IGF1促进细胞增殖, 同时抑制MAPK、ERK1/2磷酸化, 促进卵母细胞中蛋白激酶A磷酸化, 减少卵母细胞内孕酮分泌, 进而阻断牛卵母细胞体外成熟^[48]。上述结果说明, Apelin可通过调节激素水平, 影响机体妊娠期的卵母细胞发育, 以维持黄体功能, 改善子宫内膜环境, 促进胚胎的着床发育。可见, Apelin/APJ在PCOS妊娠结局中亦扮演了重要角色。

4 总结

综上所述, Apelin在PCOS中的差异表达与内脏脂肪蓄积引起的脂质代谢障碍紧密相关, 参与了PCOS-IR、炎症、类固醇分泌紊乱及卵巢功能的调节。研究证明, Apelin通过多种通路以时间-剂量依赖方式促进GCs增殖, 推测其高表达可能是对PCOS中GCs凋亡的代偿机制。然而, 过量的Apelin可过度活化下游通路, 打破GCs增殖平衡, 影响类固醇分泌, 导致卵巢病理改变。不同的Apelin亚型虽有相似的增殖效应, 但对类固醇分泌影响各异。Apelin对PCOS的生殖影响贯穿卵泡的筛选发育、黄体的形成和功能维持, 以及胚胎的着床发育等多个环节, 是研究PCOS生殖障碍的关键。但Apelin当前在PCOS中仍以临床变量及关联性研究为主, 机制研究多集中于卵泡发育, 且所用细胞系未构建与PCOS相关的病理模型, 尚不能反映其在病理条件下的调节作用。此外, Apelin亚型多样, 表达广泛, 作用机制复杂, 样本类型、年龄、表型、检测亚型、研究时间及用量不同均可影响研究结果。因此, 未来需加强大样本、多中心临床研究, 研究设计需注意Apelin的时间-剂量关系, 明确Apelin不同亚型在PCOS不同年龄及表型中的表达, 并构建PCOS相关的动物或细胞模型以验证病理条件下Apelin对PCOS的影响, 为以其为靶点的药物研发提供思路和理论基础。

作者贡献声明:

周建华: 设计论文框架, 起草论文, 论文修改;

郭英: 指导撰写文章, 论文修改;

夏悦、刘虹麟、谢佳妮、王奕力: 论文修改;

倪晓容: 拟定写作思路, 指导撰写文章并定稿。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

参考文献

- [1] Stener-Victorin E, Teede H, Norman RJ, et al. Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers*, 2024, 10(1): 27
- [2] Dumesic DA, Oberfield SE, Stener-Victorin E, et al. Scientific statement on the diagnostic criteria, epidemiology, pathophysiology, and molecular genetics of polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*, 2015, 36(5): 487-525
- [3] Azziz R. Systemic chronic subclinical inflammation, adipose tissue dysfunction, and polycystic ovary syndrome: three major forces intertwined. *Fertil Steril*, 2021, 116(4): 1147-1148
- [4] Xu Y, Zhu H, Li W, et al. Targeting adipokines in polycystic ovary syndrome and related metabolic disorders: from experimental insights to clinical studies. *Pharmacol Ther*, 2022, 240: 108284
- [5] 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
- [6] Boucher J, Masri B, Daviaud D, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 2005, 146(4): 1764-1771
- [7] Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*, 2000, 74(1): 34-41
- [8] Pisarenko OI, Studneva IM. Apelin C-terminal fragments: biological properties and therapeutic potential. *Biochemistry (Mosc)*, 2023, 88(11): 1874-1889
- [9] Mehri K, Hamidian G, Zavvari Oskuye Z, et al. The role of apelinergic system in metabolism and reproductive system in normal and pathological conditions: an overview. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1193150
- [10] O'Dowd 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. *Gene*, 1993, 136(1-2): 355-360
- [11] Murali S, Aradhyam GK. Structure-function relationship and physiological role of apelin and its G protein coupled receptor. *Biophys Rev*, 2023, 15(1): 127-143
- [12] Chen P, Jia R, Liu Y, et al. Progress of adipokines in the female reproductive system: a focus on polycystic ovary syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 881684
- [13] Wang X, Zhang L, Li P, et al. Apelin/APJ system in inflammation. *Int Immunopharmacol*, 2022, 109: 108822
- [14] Kinjo T, Higashi H, Uno K, et al. Apelin/apelin receptor system: molecular characteristics, physiological roles, and prospects as a target for disease prevention and pharmacotherapy. *Curr Mol Pharmacol*, 2021, 14(2): 210-219
- [15] Kuai D, Tang Q, Wang X, et al. Relationship between serum Apelin, visfatin levels, and body composition in Polycystic Ovary Syndrome patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2024, 297: 24-29
- [16] Kiyak Caglayan E, Engin-Üstun Y, Sari N, et al. Is there association between vitamin D levels, apelin 36, and visfatin in PCOS? *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(5): 386-389
- [17] 周晓景. Apelin13在大鼠PCOS发生机制中的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018
- [18] Kanwal S, Allahwasaya A, Anjum N, et al. Serum apelin levels in polycystic ovary syndrome and its relationship with adiposity profile in females. *Prof Med J*, 2021, 28(6): 902-906.
- [19] Kolan'ska-Dams E, Boinska J, Socha MW. Adipokine levels and carbohydrate metabolism in patients diagnosed *de novo* with polycystic ovary syndrome. *Qatar Med J*, 2021, 2021(2): 34
- [20] Ruan X, Li M, Min M, et al. Plasma visfatin and apelin levels in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2023, 39(1): 2216807
- [21] Qian Y, Tong Y, Zeng Y, et al. Integrated lipid metabolomics and proteomics analysis reveal the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 364
- [22] Ali SE, Khaleel FM, Ali FE. A study of apelin-36 and GST levels with their relationship to lipid and other biochemical parameters in the prediction of heart diseases in PCOS women patients. *Baghdad Science Journal*, 2020, 17(3): 924-930
- [23] Ciura D, Owczarek AJ, Franik G, et al. A cross-sectional study of the association between circulating sex hormone-binding globulin levels and selected adipokines in women with polycystic ovary syndrome. *Front Med (Lausanne)*, 2023, 10: 1183961
- [24] Bongrani A, Mellouk N, Rame C, et al. Ovarian expression of adipokines in polycystic ovary syndrome: a role for Chemerin, Omentin, and Apelin in follicular growth arrest and ovulatory dysfunction? *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3778
- [25] Tosi F, Bonora E, Moghetti P. Insulin resistance in a large cohort of women with polycystic ovary syndrome: A comparison between euglycaemic-hyperinsulinaemic clamp and surrogate indexes. *Hum Reprod*, 2017, 32(12): 2515-2521
- [26] 褚冉, 梁毓. 多囊卵巢综合征患者血清脂肪因子Asprosin、apelin-13表达及与胰岛素抵抗关系. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(04): 846-850

- [27] 蔡玉, 刁海丹. 血清TGF- β 1、Apelin、CYP19A1水平与PCOS内分泌异常间的关系分析. *生殖医学杂志*, 2022, 31(4): 463-467
- [28] Ożegowska K, Bartkowiak-Wieczorek J, Bogacz A, et al. Relationship between adipocytokines and angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in lean women with and without polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36(6): 496-500
- [29] Hasan MM, Abd El Hameed AA. Serum adipokine (apelin) in lean and obese polycystic ovary syndrome patients before and after metformin treatment. *Middle East Fertility Soc J*, 2018, 23(4): 315-318
- [30] Sun X, Wu X, Zhou Y, et al. Evaluation of apelin and insulin resistance in patients with PCOS and therapeutic effect of drospirenone-ethinylestradiol plus metformin. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 2547-2552
- [31] 林菁, 王琳琳, 王虹, 等. 苍附导痰汤对痰湿型多囊卵巢综合征患者卵泡发育的影响. *包头医学院学报*, 2024, 40(7): 68-72
- [32] Bongrani A, Plotton I, Mellouk N, et al. High androgen concentrations in follicular fluid of polycystic ovary syndrome women. *Reprod Biol Endocrinol*, 2022, 20(1): 88
- [33] Rudnicka E, Suchta K, Grymowicz M, et al. Chronic low grade inflammation in pathogenesis of PCOS. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7): 3789
- [34] Liu Y, Liu H, Li Z, et al. The release of peripheral immune inflammatory cytokines promote an inflammatory cascade in PCOS patients via altering the follicular microenvironment. *Front Immunol*, 2021, 12: 685724
- [35] 甄凤玲, 张平. 第二届全国医药研究论坛论文集(一): Apelin与IL-18在多囊卵巢综合征患者血清中的表达及意义分析[C]. 榆林: 榆林市医学会, 2023: 59-65
- [36] 曾绮琪, 黄嘉颖, 刘雅旋. 促排卵汤联合枸橼酸氯米芬胶囊对多囊卵巢综合征肥胖患者血清淀粉样蛋白P、脂肪细胞因子、白细胞介素-18的调控作用及机制研究. *中国民间疗法*, 2022, 30(10): 82-85
- [37] 种秀峰. 促排卵汤联合生活方式干预对多囊卵巢综合征妇女血清SAP、Apelin与IL-18水平的影响. *光明中医*, 2021, 36(2): 227-229
- [38] Roche J, Rame C, Reverchon M, et al. Apelin (APLN) and apelin receptor (APLNR) in human ovary: expression, signaling, and regulation of steroidogenesis in primary human luteinized granulosa cells. *Biol Reprod*, 2016, 95(5): 104
- [39] Gupta M, Korde JP, Bahiram KB, et al. Expression and localization of apelin and apelin receptor (APJ) in buffalo ovarian follicles and corpus luteum and the *in-vitro* effect of apelin on steroidogenesis and survival of granulosa cells. *Theriogenology*, 2023, 197: 240-251
- [40] 欧蕾, 郭艺红. siRNA靶向沉默Apelin基因对卵巢颗粒细胞Foxo1a的表达、Akt活性及细胞增殖的影响. *医药论坛杂志*, 2018, 39(04): 8-12
- [41] Shokrollahi B, Zheng HY, Ma XY, et al. The effects of apelin on IGF1/FSH-induced steroidogenesis, proliferation, Bax expression, and total antioxidant capacity in granulosa cells of buffalo ovarian follicles. *Vet Res Commun*, 2023, 47(3): 1523-1533
- [42] Yang Y, Lang P, Zhang X, et al. Molecular characterization of extracellular vesicles derived from follicular fluid of women with and without PCOS: integrating analysis of differential miRNAs and proteins reveals vital molecules involving in PCOS. *J Assist Reprod Genet*, 2023, 40(3): 537-552
- [43] Du J, Lin X, Wu R, et al. miR-424 suppresses proliferation and promotes apoptosis of human ovarian granulosa cells by targeting Apelin and APJ expression. *Am J Transl Res*, 2020, 12(7): 3660-3673. Erratum in: *Am J Transl Res*, 2021, 13(4): 3917-3918
- [44] Wang W, Ge L, Zhang L, et al. MicroRNA-16 represses granulosa cell proliferation in polycystic ovarian syndrome through inhibition of the PI3K/Akt pathway by downregulation of Apelin 13. *Hum Fertil (Camb)*, 2023, 26(3): 611-621
- [45] Wang W, Tan L, Ge L, et al. Circ_0043314 modulates proliferation and apoptosis of ovarian granulosa cells in polycystic ovarian syndrome via the microRNA-146b-3p/Apelin 13 axis. *Gynecol Obstet Invest*, 2024, 1-12
- [46] Anima B, Gurusubramanian G, Roy VK. Apelin receptor modulation mitigates letrozole-induced polycystic ovarian pathogenesis in mice. *Cytokine*, 2024, 179: 156639
- [47] Shokrollahi B, Zheng HY, Li LY, et al. Apelin and apelin receptor in follicular granulosa cells of buffalo ovaries: expression and regulation of steroidogenesis. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 844360
- [48] Roche J, Ramé C, Reverchon M, et al. Apelin (APLN) regulates progesterone secretion and oocyte maturation in bovine ovarian cells. *Reproduction*, 2017, 153(5): 589-603