

论著 · 临床研究

APLN 及其受体在肝细胞癌中的表达及其临床意义^{*}

朱东来¹, 王 婷², 陆 静², 葛国洪³, 邵江波^{3△}
(镇江市第三人民医院: 1. 检验科; 2. 内科; 3. 肝病科, 江苏 镇江 212000)

[摘 要] **目的** 阐明肝细胞癌(HCC)爱帕琳肽(APLN)和 APLN 受体(APLNR)的表达及其影响 HCC 发生、发展的潜在机制。**方法** 使用 UALCAN、GEPIA 网站对 HCC APLN 和 APLNR 表达及其对生存率的影响进行分析,再使用 TIMER 网站和 STRING 数据库对 APLN 促进 HCC 发生、发展的可能分子机制进行分析。**结果** 与正常样本比较,HCC APLN 转录水平明显上调,APLNR 转录水平无明显变化。APLN 高表达的 HCC 患者生存期明显缩短,APLNR 表达水平与 HCC 患者生存预后无明显相关性。异常表达的 APLN 分子与血管内皮生长因子 A(VEGFA)呈明显正相关,低氧诱导因子 1、Fms 相关酪氨酸激酶 1、神经纤毛蛋白 2、VEGFR2 均与 APLN-VEGFA 存在相互作用,且主要参与调节内皮细胞增殖和血管形成等。**结论** APLN 在 HCC 中明显高表达且不利于患者生存预后,APLN 可能通过调节 VEGFA 促进肿瘤血管内皮细胞增殖和血管形成等机制,促进 HCC 的发生、发展,提示 APLN 是 HCC 新的潜在诊断标志物和治疗靶点。

[关键词] 肝细胞癌; 爱帕琳肽; APLN 受体; 预后; 生物信息学分析
DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.14.012 **中图法分类号:**R735.7
文章编号:1009-5519(2023)14-2400-07 **文献标识码:**A

The expression and clinical significance of APLN and its receptor in hepatocellular carcinoma^{*}

ZHU Donglai¹, WANG Ting², LU Jing², GE Guohong³, SHAO Jiangbo^{3△}

(1. Department of Laboratory Medicine, The Third People's Hospital of Zhenjiang City, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China; 2. Internal Medicine, The Third People's Hospital of Zhenjiang City, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China; 3. Department of Hepatology, The Third People's Hospital of Zhenjiang City, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China)

[Abstract] **Objective** To elucidate the expression of Apelin(APLN) and APLN receptor(APLNR) in hepatocellular carcinoma(HCC) and its potential mechanism affecting the occurrence and development of HCC. **Methods** UALCAN and GEPIA websites were used to analyze the expression of APLN and APLNR in HCC and their effects on survival rate. Then TIMER website and STRING database were used to analyze the possible molecular mechanism of APLN promoting the occurrence and development of HCC. **Results** Compared with normal samples, the transcription level of APLN in HCC was significantly up-regulated, and the transcription level of APLNR was not significantly changed. The survival of HCC patients with high APLN expression was significantly shortened, and there was no significant correlation between APLNR expression level and survival prognosis of HCC patients. The abnormal expression of APLN was positively correlated with vascular endothelial growth factor A(VEGFA). Hypoxia inducer factor 1, FMS-related tyrosine kinase 1, neurociliin 2 and VEGFR2 all interact with APLN-VEGFA, and were mainly involved in regulating endothelial cell proliferation and angiogenesis. **Conclusion** APLN is significantly highly expressed in HCC and is not conducive to the survival and prognosis of patients. APLN may promote the occurrence and development of HCC by regulating VEGFA to promote the proliferation and angiogenesis of tumor vascular endothelial cells, suggesting that APLN is a new potential diagnostic marker and therapeutic target for HCC. ^[Key words]

[Key words] Hepatocellular carcinoma; Apelin; APLN receptor; Prognosis; Bioinformatics analysis

肝细胞癌(HCC)是最常见的原发性肝脏恶性肿瘤,在全球每年造成 700 000 例死亡患者^[1]。有许多

^{*} 基金项目:江苏省镇江市社会发展基金项目(FZ2020049)。
作者简介:朱东来(1976—),本科,副主任技师,主要从事医学检验相关工作。 [△] 通信作者,E-mail:nad763@126.com。

已知的危险因素可导致肝癌,如慢性乙型肝炎病毒或丙型肝炎病毒感染、酗酒、肥胖、非酒精性脂肪肝疾病等^[2]。最近研究发现,磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素蛋白、Wnt/ β -联蛋白 5、泛素/蛋白酶降解及某些非编码 RNA 均可促进 HCC 的发生、发展^[3-7]。针对这些关键途径进行靶向治疗有望改善 HCC 患者预后。但目前引起 HCC 这些通路发生变化的分子机制尚不清楚。

爱帕琳肽(APLN)是一种新近发现的小分子多肽,编码序列位于 Xq25-q26.1 染色体上,天然 APLN 前体由 77 个氨基酸残基组成,随后经剪切加工产生各种活性形式的 APLN,最多见的活性异构体分别为 APLN-36、APLN-17 和 APLN-13,其通过与 APLN 受体(APLNR)结合参与细胞内信号传导^[8]。有研究发现,APLN-APLNR 系统在正常生理过程中参与了心血管调节、能量代谢、体液稳态、血管生成和免疫调节等多个领域^[9-11]。然而越来越多的研究发现,APLN-APLNR 系统在多种肿瘤的血管内皮细胞中高表达,如肠癌、肺癌等^[12-14],可能通过促进肿瘤血管生成参与了肿瘤的发生、发展和转移^[15]。但 APLN-APLNR 系统在 HCC 中的作用尚未得到充分的关注。因此,本研究探讨了在 HCC 中 APLN-APLNR 系统的表达水平及其与 HCC 发生、发展的潜在机制,旨在为 HCC 的早期诊断和靶向干预提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

将 UALCAN、GEPIA、TIMER 网站和 STRING 数据库中对 HCC APLN 和 APLNR 表达及其对生存率的影响,以及 APLN 促进 HCC 发生、发展的可能分子机制的分析资料作为研究对象。

1.2 方法

1.2.1 APLN 与 APLNR 表达差异和生存差异分析

GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)平台是提供基于癌症和肿瘤基因图谱(TCGA)数据库的综合性在线分析网站^[16]。UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/analysis.html>)是提供基于癌症和 TCGA 和 MET500 数据库的综合性在线分析网站^[17]。通过 UALCAN 网站分析了 APLN、APLNR 在 371 例 HCC 和 50 例正常肝组织中的表达差异,采用 $\log_2FC \geq 1$, $P < 0.01$ 为阈值。因 UALCAN 网站只包含了 TCGA 数据库 50 例正常肝脏组织对照样本,故又利用 GEPIA 网站(包括 369 例 HCC 及 TCGA 数据库和 GTEx 数据库共 160 例正常肝脏组织样本)对 APLN、APLNR 表达水平进行了分析,仍采用 $\log_2FC \geq 1$ 且 $P < 0.01$ 为阈值。将 APLN、APLNR 表达量从高至低排序后分组进行生存差异分析,GEPIA 网站取前 50% 为高表达组、后 50% 为低表达组。UALCAN 网站

取前 25% 为高表达组、后 75% 为低表达组。

1.2.2 HCC APLN 与其他基因表达的相关性

TIMER(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)是一个可分析不同肿瘤免疫细胞浸润水平、基因表达差异及其相关性的综合性网站^[18]。为进一步探讨异常表达的 APLN 在 HCC 发生、发展中的作用,查阅文献发现,低氧条件下低氧诱导因子 1(HIF-1)可促进 APLN 上调从而促进细胞增殖,迁移和血管生成^[20]。有研究对心肌梗死的大鼠注射 APLN,结果显示,其可促进 VEGFA 的表达从而促进新生血管形成改善心肌功能^[21]。因此,通过 TIMER 网站分析了 HIF-1 α 、VEGFA 在 HCC 中表达、与 HCC 患者生存预后及与 APLN 表达的相关性,分析 APLN 促进 HCC 发生、发展的可能机制。

1.2.3 蛋白质互作网络(PPI)分析

STRING(<https://string-db.org/>)数据库收录了所有公开的 PPI 数据,并可预测蛋白间潜在的作用关系,以更好地理解生命体中复杂的调控网络^[19]。通过 STRING 数据库对 APLN 和血管内皮生长因子 A(VEGFA)进行 PPI 分析,以研究其潜在的相互作用。为进一步分析 PPI 中分子的生物学功能,故对其进行基因本体(GO)和 KEGG 富集分析。

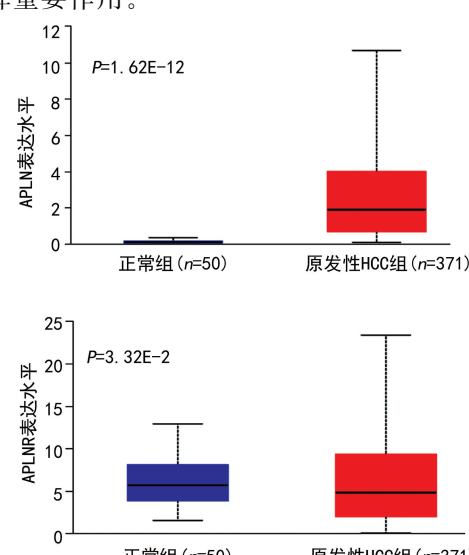
1.3 统计学处理

应用 UALCAN 网站 PERL 脚本进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 APLN、APLNR 在 HCC 和正常肝组织的表达比较

APLN 在 HCC 组织中的表达明显升高,APLNR 在 HCC 和正常肝组织的表达无明显差异。见图 1、2。提示 APLN 的异常表达可能在 HCC 进展过程中发挥重要作用。



Gene	Group	Sample Size (n)	Median Expression Level	Significance (P-value)
APLN	Normal Liver	50	~0.5	$P = 1.62 \times 10^{-12}$
	Primary HCC	371	~2.5	
APLNR	Normal Liver	50	~6.5	$P = 3.32 \times 10^{-2}$
	Primary HCC	371	~5.5	

图 1 APLN、APLNR 在 HCC 和正常肝组织的表达比较 (UALCAN 网站)

2.2 APLN、APLNR 在不同特征患者 HCC 组织中的表达比较 APLN、APLNR 在不同性别、年龄,是

否远处转移患者 HCC 组织中的表达比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 APLN、APLNR 在不同特征患者 HCC 组织中的表达比较($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	APLN 表达	<i>t</i>	<i>P</i>	APLNR 表达	<i>t</i>	<i>P</i>
性别			—	0.40		—	0.04
男	245	2.13±2.00			5.10±3.76		
女	117	2.18±1.82			6.94±5.53		
年龄(岁)			—	0.20		—	0.40
21~<40	27	2.24±2.17			9.53±6.91		
40~<60	140	2.24±2.00			6.71±5.48		
60~<80	181	2.08±1.66			4.79±3.41		
≥80	10	6.22±3.83			7.26±5.38		
远处转移			—	0.70		—	0.90
无	252	2.10±1.82			5.49±4.15		
1~3 个淋巴结转移	4	4.95±4.45			3.38±1.98		

注:—表示无数据。

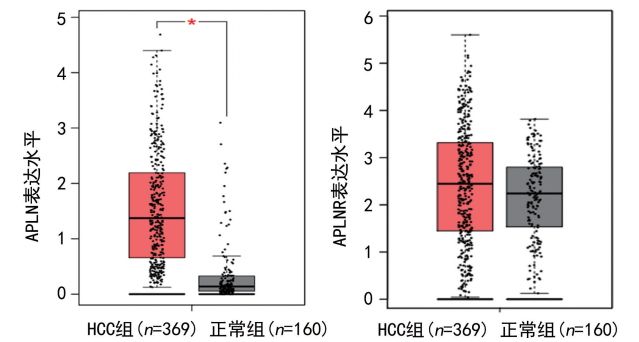


图 2 APLN、APLNR 在 HCC 和正常肝组织的表达比较 (GEPIA 网站)

2.3 APLN、APLNR 分子在 HCC 4 个分期和正常肝组织中的表达比较 (1)GEPIA 网站: APLN、APLNR 在 HCC 4 个分期中的表达比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 3。(2)UALCAN 网站: APLN 在正常肝组织的表达明显低于 HCC II、III、IV 期,在 HCC 4 个分期的表达无明显差异;APLNR 在正常肝组织的表达明显低于 HCC I 期,在 HCC 4 个分期的表达无明显差异。见图 4、表 2。

表 2 APLN、APLNR 分子在 HCC 4 个分期和正常肝组织中的表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	APLN 表达	APLNR 表达
正常肝组织	50	0.12±0.08	5.94±2.55
HCC			
I 期	168	1.41±1.37	6.38±4.58 ^a
II 期	84	3.31±2.28 ^a	4.41±4.93
III 期	82	3.07±2.47 ^a	4.67±4.10
IV 期	6	2.29±1.93 ^a	7.78±4.84

注:与正常肝组织比较,^a $P<0.05$ 。

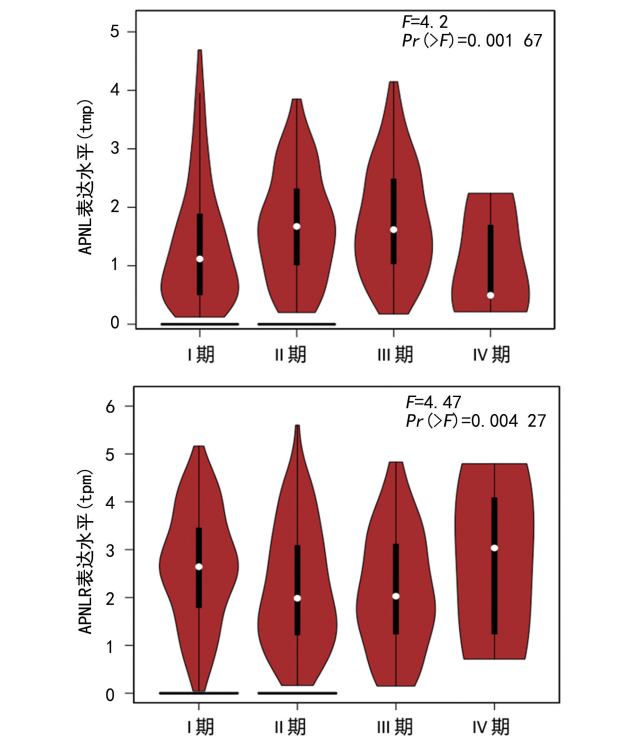


图 3 APLN、APLNR 分子在 HCC 4 个分期中的表达比较(GEPIA 网站)

2.4 APLN、APLNR 与 HCC 患者生存期的相关性 APLN 高表达组患者生存期明显低于低表达组, APLNR 表达水平对 HCC 生存预后无明显影响。见图 5、6。提示 APLN 高表达不利于患者预后, APLN 在 HCC 中可能具有促进肿瘤生长、发育的作用。

2.5 APLN 促进 HCC 发生、发展的可能机制 VEGFA 在 HCC 中明显上调,且与 HCC 患者的低生存期明显相关,见图 7A、B。采用 TIMER 对 HCC 中

对 APLN 与 VEGFA 进行相关性分析,发现 APLN 与 VEGFA 表达呈明显正相关。见图 7C。提示 APLN 可能与 VEGFA 存在相互调节作用从而促进 HCC 微环境中血管形成,促进肿瘤的发生、发展。

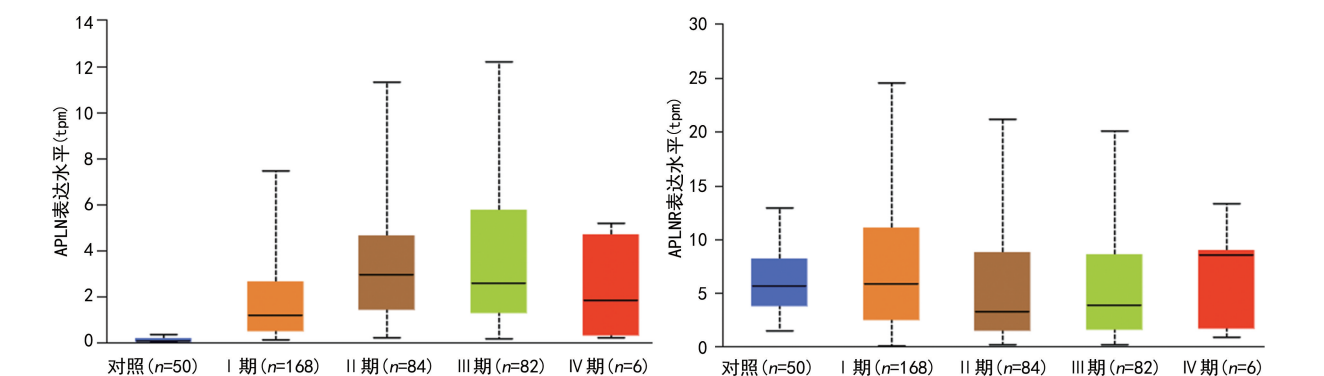


图 4 APLN、APLNR 分子在 HCC 4 个分期和正常肝组织中的表达比较 (UALCAN 网站)

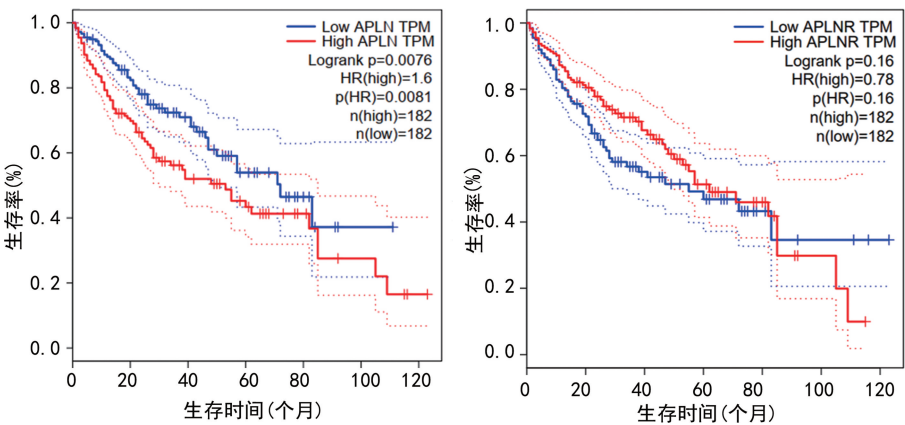


图 5 APLN 和 APLNR 高、低表达组 HCC 患者生存率比较 (GEPIA 网站)

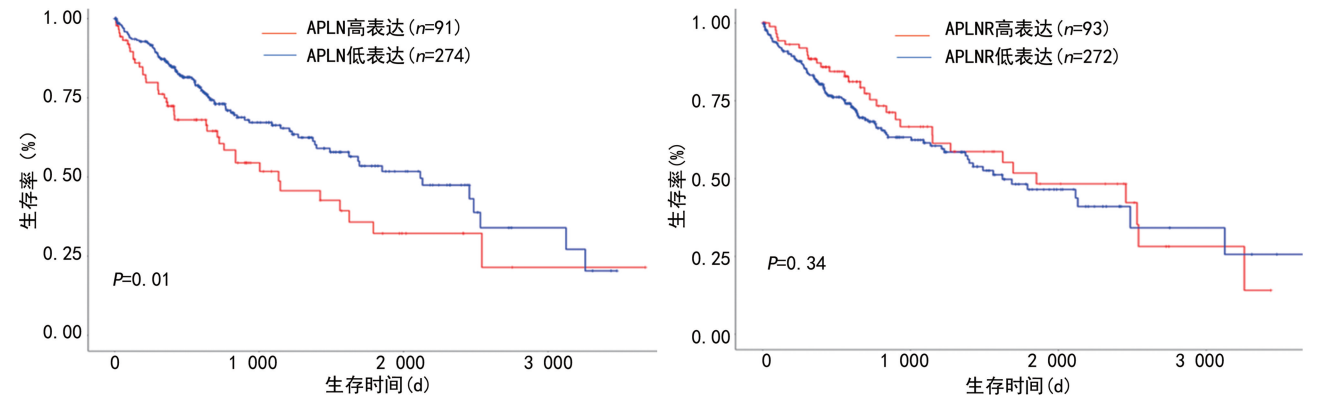
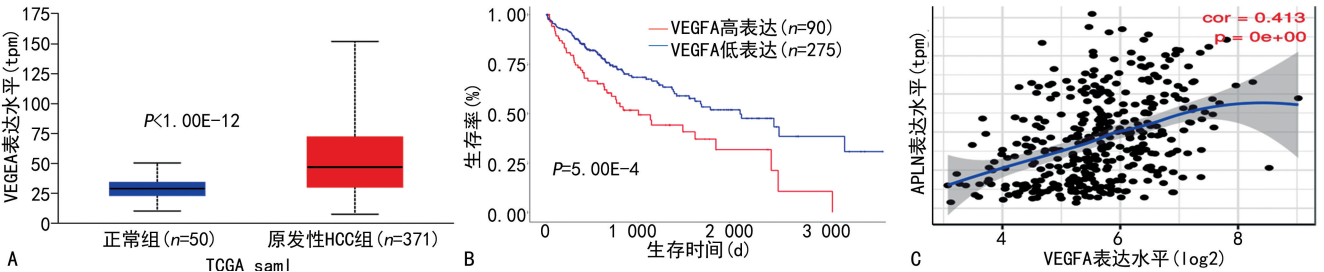


图 6 APLN 和 APLNR 高、低表达组 HCC 患者生存率比较 (UALCAN 网站)



注:A 为 VEGFA 在 HCC 和正常肝组织中的表达比较;B 为 VEGFA 高、低表达组 HCC 患者生存率比较;C 为 HCC 中 VEGFA 与 APLN 表达的相关性。

图 7 APLN 促进 HCC 发生、发展的可能机制

2.6 APLN 与 VEGFA 的 PPI HIF-1 α 、Fms 相关酪氨酸激酶 1 (FLT1)、神经纤毛蛋白 2 (NRP2)、激酶插入区受体 (KDR) 均与 APLN、VEGFA 存在相互作用。见图 8。其参与的生物学过程主要包括内皮细胞

增殖、血管形成及细胞增殖等。见表 5。PPI 主要与 HIF-1 α 、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、Ras 、Rap1 和细胞因子及其受体信号通路有关。见表 6。

表 5 PPI 中分子的 GO 富集分析

ID	功能描述	相关蛋白	强度	错误发现率
GO:0001936	调控内皮细胞增殖	KDR,FLT1,NRP2,APLN,HIF1A,APLNR,VEGFA	2.21	4.85E-13
GO:0001525	血管形成	KDR,FLT1,NRP2,APLN,HIF1A,APLNR,VEGFA	1.82	7.18E-11
GO:0038084	VEGF 信号通路	KDR,FLT1,NRP2,VEGFA	2.84	2.93E-09
GO:0008284	调控细胞增殖	KDR,FLT1,NRP2,APLN,HIF1A,APLNR,VEGFA	1.35	2.66E-08
GO:0005021	VEGF 激活的受体活性	KDR,FLT1,NRP2	3.08	3.39E-07

表 6 PPI 中分子的 KEGG 通路富集分析

ID	功能描述	相关蛋白	强度	错误发现率
hsa04066	HIF-1 信号通路	FLT1,HIF1A,VEGFA	1.93	1.4E-05
hsa04010	MAPK 信号通路	KDR,FLT1,VEGFA	1.46	5.2E-05
hsa04014	Ras 信号通路	KDR,FLT1,VEGFA	1.57	5.2E-05
hsa04015	Rap1 信号通路	KDR,FLT1,VEGFA	1.62	5.2E-05
hsa04060	细胞因子-细胞因子受体相互作用	KDR,FLT1,VEGFA	1.50	5.2E-05

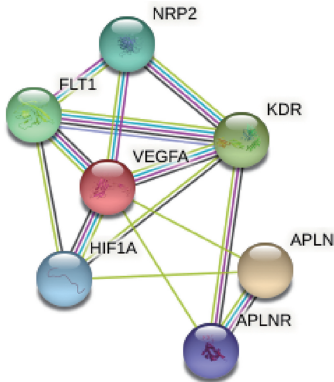


图 8 APLN 和 VEGFA 蛋白相互作用

3 讨 论

本研究通过生物信息学分析发现,APLN-APLNR 系统中的 APLN 在 HCC 中明显高表达,且其高表达不利于 HCC 患者生存;而 APLNR 在 HCC 与正常样本中的表达无明显差异,且其在 HCC 中表达水平与 HCC 患者生存无明显相关性。本研究 HCC 样本量较大,数据分析具有较高的可信度。但还需要进一步的实验对结果进行验证。

APLN/APNR 系统在许多器官的生理和病理中具有重要作用,参与了调节心血管发育、心脏疾病,以及糖、脂肪代谢,代谢性疾病等。APLN/APNR 系统也参与了各种细胞活动,如增殖、迁移、凋亡或炎症等。在许多肿瘤中均发现了 APLN 明显上调,如结肠癌、胃癌、食管癌、肺癌等^[22-23]。但关于 APLN-APL-

NR 系统在 HCC 中的研究非常少见。CHEN 等^[24]通过基因芯片分析和临床样本验证发现,APLN 在 HCC 中明显高表达,且与 HCC 患者临床预后密切相关。MUTO 等^[25]发现,APLN、APLNR 在 HCC 中(尤其是在 HCC 的血管平滑肌细胞中)均明显高表达。LEE 等^[26]发现,APLNR 在 HCC 中的表达与微血管浸润、肝内转移和早期复发相关,APLNR 高表达患者总生存期较短。以上研究中 APLN 在 HCC 中的表达趋势与患者生存关系均与本研究结论一致,更加证明了 APLN 在 HCC 发生、发展中具有重要意义。但关于以上研究中 APLNR 在 HCC 中的表达趋势与本研究结论尚存在分歧,后期将通过收集临床样本对 APLNR 的表达水平进行进一步验证。

但 APLN-APLNR 信号如何调节肿瘤发生、发展还不清楚。SORLI 等^[27]在 小鼠肿瘤模型中发现,APLN 上调促进肿瘤血管生成。此外 KIDOYA 等^[28]发现,APLN-APLNR 系统促进肿瘤血管形态和功能成熟。URIBESALGO 等^[29]在乳腺癌和肺癌中发现,APLN 高表达与抗血管生成疗法造成的耐受和转移密切相关,通过抑制 APLN 可阻止该现象的发生,其进一步的研究发现,APLN 可诱导内皮细胞中的促进血管形成通路活化同时也增强 VEGFA 诱导的血管形成作用。本研究通过生物信息学发现,HCC 中 APLN 和 VEGFA 表达呈正相关。

CHEN 等^[24]在 HCC 肿瘤中研究发现, Wnt/ β -联蛋白信号通路可促进 APLN 表达, 过表达的 APLN 通过促进磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路活化而促进肿瘤细胞增殖和抑制肿瘤细胞凋亡。本研究通过 PPI、GO 和 KEGG 富集分析发现, HIF-1 α 、FLT1、NRP2、KDR 均与 APLN、VEGFA 存在相互作用, 且与血管形成及内皮细胞增殖密切相关, 并参与了 HIF-1、MAPK、Ras、Rap1 信号通路等。

综上所述, APLN 在 HCC 中高表达, 可能通过 VEGFA 促进肝癌血管形成从而促进肿瘤细胞生长和转移, 其分子机制可能涉及 HIF-1、MAPK、Ras、Rap1 信号通路等。APLN-APLNR 系统可能对早期诊治 HCC 具有重要临床意义。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] GOMAA A I, KHAN S A, TOLEDANO M B, et al. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology, risk factors and pathogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(27): 4300-4308.
- [3] HUYNH H, ONG R W, LI P Y, et al. Targeting receptor tyrosine kinase pathways in hepatocellular carcinoma [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2011, 11(6): 560-575.
- [4] ZHOU Q, LUI V W, YEO W. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Future Oncol, 2011, 7(10): 1149-1167.
- [5] CAVARD C, COLNOT S, AUDARD V, et al. Wnt/beta-catenin pathway in hepatocellular carcinoma pathogenesis and liver physiology [J]. Future Oncol, 2008, 4(5): 647-660.
- [6] CHEN Y J, WU H, SHEN X Z. The ubiquitin-proteasome system and its potential application in hepatocellular carcinoma therapy[J]. Cancer Lett, 2016, 379(2): 245-252.
- [7] 冯敏, 丁杰, 刘颂, 等. 肝细胞癌患者内质网应激-凋亡信号通路的性别差异[J]. 江苏大学学报(医学版), 2017, 27(5): 432-436.
- [8] LV S Y, YANG Y J, CHEN Q. Regulation of feeding behavior, Gastrointestinal function and fluid homeostasis by apelin[J]. Peptides, 2013, 44: 87-92.
- [9] WYSOCKA M B, PIETRASZEK-GREMPLEW ICZ K, NOWAK D. The role of apelin in cardiovascular diseases, obesity and cancer[J]. Front Physiol, 2018, 9: 557.
- [10] ADAM F, KHATIB A M, LOPEZ J J, et al. Apelin: An antithrombotic factor that inhibits platelet function[J]. Blood, 2016, 127(7): 908-920.
- [11] YANG P, READ C, KUC R E, et al. Elabela/Toddler is an endogenous agonist of the apelin APJ receptor in the adult cardiovascular system, and exogenous administration of the peptide compensates for the downregulation of its expression in pulmonary arterial hypertension [J]. Circulation, 2017, 135(12): 1160-1173.
- [12] YANG L, LI Y L, LI X Q, et al. High apelin level indicates a poor prognostic factor in muscle-invasive bladder cancer [J]. Dis Markers, 2019, 2019: 4586405.
- [13] TOLKACH Y, ELLINGER J, KREMER A, et al. Apelin and apelin receptor expression in renal cell carcinoma [J]. Br J Cancer, 2019, 120(6): 633-639.
- [14] WANG Z, GREELEY G H JR, QIU S. Immunohistochemical localization of apelin in human normal breast and breast carcinoma [J]. J Mol Histol, 2008, 39(1): 121-124.
- [15] RAYALAM S, DELLA-FERA M A, KASSER T, et al. Emerging role of apelin as a therapeutic target in cancer: A patent review [J]. Recent Pat Anticancer Drug Discov, 2011, 6(3): 367-372.
- [16] TANG Z, LI C, KANG B, et al. GEPIA: A web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(1): 98-102.
- [17] CHANDRASHEKAR D S, BASHEL B, BALA SUBRAMANYA S H, et al. UALCAN: A portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. Neoplasia, 2017, 19(8): 649-655.
- [18] LI T, FAN J, WANG B, et al. TIMER: A web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells [J]. Cancer Res, 2017, 77(21): e108-110.

[19] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1):607-613.

[20] HE L, XU J, CHEN L, et al. Apelin/APJ signaling in hypoxia-related diseases[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 451(Pt B):191-198.

[21] AZIZI Y, FAGHIHI M, IMANI A, et al. Post-infarct treatment with [Pyr(1)]apelin-13 improves myocardial function by increasing neo-vascularization and overexpression of angiogenic growth factors in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 761:101-108.

[22] DIAKOWSKA D, MARKOCKA-MACZKA K, SZELACHOWSKI P, et al. Serum levels of resistin, adiponectin, and apelin in gastroesophageal cancer patients [J]. *Dis Markers*, 2014, 2014:619649.

[23] PICAULT F X, CHAVES-ALMAGRO C, PROJETTI F, et al. Tumour co-expression of apelin and its receptor is the basis of an autocrine loop involved in the growth of colon adenocarcinomas[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(3): 663-674.

[24] CHEN H, WONG C C, LIU D, et al. APLN promotes hepatocellular carcinoma through activating PI3K/Akt pathway and is a druggable target[J]. *Theranostics*, 2019, 9(18):5246-5260.

[25] MUTO J, SHIRABE K, YOSHIZUMI T, et al. The apelin-APJ system induces tumor arteriogenesis in hepatocellular carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(10):5313-5320.

[26] LEE T, PARK C K, HA S Y. Prognostic role of Apelin receptor expression in hepatocellular carcinoma treated with curative surgical resection [J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(6): 3025-3031.

[27] SORLI S C, LE GONIDEC S, KNIBIEHLER B, et al. Apelin is a potent activator of tumour neoangiogenesis[J]. *Oncogene*, 2007, 26(55): 7692-7699.

[28] KIDOYA H, KUNII N, NAITO H, et al. The apelin/APJ system induces maturation of the tumor vasculature and improves the efficiency of immune therapy [J]. *Oncogene*, 2012, 31(27):3254-3264.

[29] URIBESALGO I, HOFFMANN D, ZHANG Y, et al. Apelin inhibition prevents resistance and metastasis associated with anti-angiogenic therapy[J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(8): e9266.

(收稿日期:2022-08-15 修回日期:2023-03-21)

(上接第 2399 页)

[18] WANG W, XUE C, MAO X. Chitosan: Structural modification, biological activity and application[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 4532-4546.

[19] 邵彦雄,周海文.壳聚糖口腔贴膜治疗轻型复发性阿弗他溃疡随机对照临床研究[J].*口腔疾病防治*, 2020, 28(1):36-40.

[20] ALAVI S, HAERI A, DADASHZADEH S. Utilization of chitosan-caged liposomes to push the boundaries of therapeutic delivery[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 157:991-1012.

[21] IACOB A T, LUPASCU F G, APOTROSOA EI M, et al. Recent biomedical approaches for chitosan based materials as drug delivery nanocarriers[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(4):587.

[22] MAZZOTTA E, DEBENEDITTIS S, QUALTIERI A, et al. Actively targeted and redox responsive delivery of anticancer drug by chitosan nanoparticles[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 12(1): 26-29.

(收稿日期:2022-11-11 修回日期:2023-02-23)