

心血管疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000395

氯沙坦钾通过调控 ACE2 对慢性香烟烟雾诱导的大鼠肺动脉重构的治疗作用

韩素霞,唐梅芳,王娟,常建梅,郭李平,冯磊
(新疆医科大学第五附属医院心血管内科,乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的:观察慢性香烟烟雾诱导大鼠肺动脉高压的形成,探讨氯沙坦钾通过调控血管紧张素转换酶 2(angiotensin converting enzyme,ACE2)的表达对大鼠肺动脉高压的治疗作用。**方法:**将健康雄性 SD 大鼠 48 只按析因设计分为对照组、对照+氯沙坦钾组、香烟暴露组和香烟暴露+氯沙坦钾组。香烟暴露组和香烟暴露+氯沙坦钾组大鼠在标准毒理香烟暴露箱中接受被动吸烟,对照组和对照+氯沙坦钾组同时在同种毒理箱中暴露于新鲜空气。氯沙坦钾给药采用每天腹腔内注射,正常对照组给等量生理盐水注射。建立香烟诱导的肺动脉高压大鼠模型后,用插入导管法检测右室收缩压(right ventricular systolic pressures,RVSP);图像分析法观察肺结构变化;放射免疫法检测大鼠肺组织血管紧张素 II (angiotensin II,Ang II)水平;Western blot 分析法检测 ACE2 的蛋白表达;进一步给予氯沙坦钾干预后检测其对大鼠肺动脉高压的治疗作用。**结果:**香烟暴露 6 个月后,香烟暴露组大鼠 RVSP 升高,肺动脉内膜增生、肺动脉壁明显增厚,管腔狭窄;与对照组相比,肺组织匀浆中 Ang II 含量较对照组明显升高($P<0.05$);Western blot 法检测肺组织 ACE2 的蛋白表达水平降低($P<0.05$);给予氯沙坦钾干预后,香烟暴露+氯沙坦钾组大鼠肺小动脉重构程度改善,RVSP 降低,肺组织 Ang II 含量减少,ACE2 蛋白表达增加($P<0.05$)。**结论:**慢性香烟烟雾可诱导肺小动脉重构,甚至肺动脉高压,还可刺激肺组织 Ang II 水平升高和 ACE2 的蛋白表达减弱。氯沙坦钾通过促使 ACE2 蛋白表达增加而改善肺动脉高压病程中肺小动脉的重构。氯沙坦钾使 ACE2 表达升高可能是其对肺动脉高压病程中肺小动脉重构作用机制的一部分。

【关键词】血管紧张素转换酶 2;香烟烟雾;氯沙坦钾;肺动脉重构

【中图分类号】R542.5+4

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-01-26

Losartan attenuates chronic cigarette smoke exposure-induced pulmonary vascular remodeling via angiotensin-converting enzyme-2 in rats

Han Suxia, Tang Meifang, Wang Juan, Chang Jianmei, Guo Liping, Feng Lei

(Department of Cardiovasology, the Fifth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University)

【Abstract】Objective: To determine the effect of losartan on chronic cigarette smoke-induced PAH and its possible mechanism. **Methods:** Rats were randomly divided into four groups according to the factorial design: A group: control; B group: control plus losartan; C group: smoke exposure only; D group: smoke exposure plus losartan. The rats in C and D groups were daily exposed to cigarette smoke for 6 months in the absence and in the presence of losartan. After 6 months, right ventriculus systolic pressure (RVSP) was examined. Tissue angiotensin II (Ang II) levels were measured by iodine-125 radioimmunoassay (RIA) and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in lung homogenates were measured by Western blot. **Results:** Elevated RVSP, thickened wall of pulmonary arteries with apparent medial hypertrophy along with increased Ang II and decreased ACE2 levels were observed in smoke-exposed-only rats. Losartan administration ameliorated pulmonary vascular remodeling, inhibited the smoke-induced RVSP and Ang II elevation and partially reversed the ACE2 decrease in rat lungs. **Conclusion:** The results suggest that losartan may be therapeutically useful in the chronic smoking-induced pulmonary vascular remodeling and PAH and ACE2 may be involved as part of its mechanism. Our study might provide insight into the development of new therapeutic interventions for PAH smokers.

【Key words】 angiotensin-converting enzyme-2; cigarette smoke; losartan; pulmonary vascular remodeling

作者介绍:韩素霞,Email:hansuxia212@163.com,

研究方向:肺动脉高压的发病机制。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81060023)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000395.html

肺动脉高压是由各种原因引起的肺血管阻力持续性增高,肺动脉压力升高,最终导致右心室衰竭甚至死亡的一种疾病。众所周知,肺动脉高压的形成通常是由于肺血管重构或闭塞所致^[1]。香烟烟雾可诱导肺血管重构和肌化,是肺血管结构重构的关键性作用因子^[2]。然而,慢性香烟烟雾诱导的肺动脉高压的确切机制尚不明确,可能与各种生长因子及炎性因子表达增加、炎性细胞浸润等有关。有报道称在慢性烟雾暴露的豚鼠肺组织中,血管活性物质(例如:内皮素-1 和血管内皮生长因子)表达增加,表明这些活性物质与血管重构和肺动脉压力增高有关^[3]。本研究将在一定程度上探讨香烟烟雾诱导的肺动脉高压新的干预治疗方法和可能参与机制。

研究证实肾素血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的激活与肺血管重构和肺动脉高压的发病机制相关。在 RAS 系统中,血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)催化血管紧张素 I 生成血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II), Ang II 在肺动脉高压的发生、发展中作用显著^[4]。此外, Wang 等^[5]报道血管紧张素转换酶抑制剂或特异性血管紧张素 II 受体拮抗剂可减轻低氧和野百合碱诱导的大鼠肺血管重构和肺动脉高压,而且血管紧张素转换酶抑制剂可以改善慢性香烟烟雾诱导的大鼠肺动脉血管内皮功能。基于以上研究,推测 RAS 系统的激活可能促使慢性香烟烟雾诱导的肺动脉高压发生发展。

有研究证实氯沙坦钾对高血压病和心血管疾病患者体内 ACE2 的表达有调节作用,它是一种特异性 AT1 受体阻滞剂,通过抑制 Ang II 与 AT1 受体结合而发挥作用。据报道,给小猪进行低氧处理和左右分流术后诱导肺动脉高压,再给予 AT1 受体阻滞剂/氯沙坦钾治疗,可减轻肺血管重构和肺动脉高压^[6]。ACE2 为近年来发现的 RAS 系统中新的调节成员,主要作用是裂解 Ang II 生成 Ang(1~7),已被证实与感染冠状病毒所致的严重急性呼吸综合征、急性肺损伤、肺纤维化和野百合碱诱导的肺动脉高压等多种肺部疾病有关联,AT1 受体阻滞剂的降压作用部分归功于通过调控 ACE2 表达增加而促进 Ang II 的裂解^[7]。因此,本研究致力于检测氯沙坦钾能否治疗香烟诱导的肺血管重构和肺动脉高压,进一步探讨 ACE2 的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及肺动脉高压大鼠模型的建立

实验设计:两因素析因设计。A 因素为香烟因素,有 2 个水平:空白、香烟暴露;B 因素为氯沙坦钾效应因素,有 2 个水平:空白、氯沙坦钾;由此构成 4 个实施方案组,见表 1 及下述。

选 4 周龄二级健康雄性 SD 大鼠 48 只(由四川大学动物中心提供,体质量 100~150 g),将大鼠随机分为:a:对照(A1B1)组;b:对照+氯沙坦钾(A1B2)组;c:香烟暴露(A2B1)组;d:香烟暴露+氯沙坦钾(A2B2)组。每组 12 只。氯沙坦钾(科素亚)由默沙东制药有限公司提供。

将香烟暴露组和香烟暴露+氯沙坦钾组大鼠置于通风的标准毒理香烟暴露箱中,暴露箱中点燃 15 支无过滤嘴香烟(每支烟含尼古丁 1 mg,焦油 14 mg)产生烟雾,每次 30 min,每日 2 次,时间为 6 个月。暴露室的烟总颗粒(total particulate smoke, TPS)浓度为 (250 ± 26) mg/m³,整个暴露时期的 TPS 浓度由排气口的过滤器通过重量分析检测。对照组和对照+氯沙坦钾组在相同设备下暴露于新鲜空气中。在每天香烟烟雾暴露 1 h 前对照组和香烟暴露组给予 30 mg/kg 氯沙坦钾灌胃,对照+氯沙坦钾组和香烟暴露+氯沙坦钾组给予生理盐水灌胃,每日 1 次,共 6 个月。

1.2 血流动力学及形态学分析

血流动力学分析:大鼠经过 6 个月的香烟烟雾暴露后,用戊巴比妥(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,固定于仰卧位,呼吸室内空气。检测右室收缩压(right ventricular systolic pressure, RVSP),轻柔地将充满肝素-生理盐水(50 U/ml)的套管经右颈外静脉进入右心室。用微型液体压力传感器和计算机数据采集系统来检测和记录 RVSP 结果,波形稳定 5 min,则 RVSP 数据采集完成。

肺组织标本制备和形态学分析:所有大鼠检测完 RVSP 后,最后髂外动脉取血致死,取肺组织。右肺组织于 4%多聚甲醛中固定,石蜡包埋过夜,切片,组织学染色。左肺组织取出后快速置于液氮中冷藏,后储存于 -80 °C 冰箱供生化分析使用。石蜡切片用, Van Gieson 染色法染色。对血管形态学进行评估,用 Image-proplus 5.0 图像分析软件进行分析。

1.3 放射免疫分析法测定肺组织 Ang II 含量

组织中的 Ang II 表达水平用 Ang II 放射免疫分析试剂药盒(Beijing North Institute of Biological Technology, Beijing, China)来测定,碘-125 放射免疫测定法的具体检测步骤按厂商提供的说明书操作:肺组织用冰盐水冲洗后切碎,于 100 °C 的 0.1 mol/L HCl 中加热 10 min,匀浆。15 000 × g 离心分离 30 min,上清液经冷冻干燥后重新溶解于 400 μl 缓冲液中,其放射性活度由 γ 计数器来测定。

1.4 Western blot 检测心肌组织 ACE2 蛋白表达水平

用 Western blot 法分析 ACE2 的蛋白表达量。肺组织匀浆

后加入含 50 mmol/L Tris-HCl, 150 mmol/L NaCl, 1% NP-40, 0.5% 脱氧胆酸钠, 2 mmol/L NaF, 2 mmol/L EDTA, 0.1% SDS 和混合有蛋白酶抑制剂药片的组织裂解液 (Roche Applied Science, Indianapolis, USA)。肺组织匀浆蛋白浓度用 BCA 法测定 (Pierce, Rockford, IL, USA)。等量的蛋白样本 (30 μ g) 用 10% 的聚丙烯酰胺凝胶分离, 后转移至 0.45 μ mol/L 聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜上 (Millipore, Bedford, MA)。膜分别置于 1:500 稀释的 ACE2 多克隆抗体中孵育 (Santa Cruz Biotechnologies, Santa Cruz, CA)。Western blot 参照厂家说明书用增强的化学发光法操作。

1.5 统计学分析

观测资料主要为计量数据, 均通过正态性检验, 采用 SPSS 17.0 统计软件包进行资料分析。因试验为两因素 2×2 析因设计, 故整体比较为两因素析因方差分析; 组间两两比较采用 LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 氯沙坦钾治疗可减轻香烟诱导的大鼠 RVSP 增高和肺动脉重构

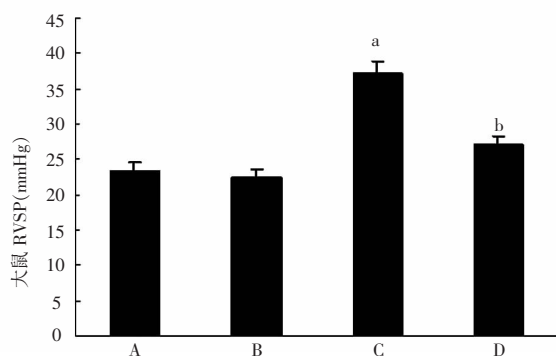
为证实慢性香烟烟雾对大鼠肺动脉的作用和氯沙坦钾对肺动脉高压的治疗作用, 首先进行大鼠 RVSP 分析, 检测大鼠肺组织的组织病理变化。如表 1, 图 1、2 所示。

表 1 4 组大鼠右室收缩压值 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab.1 Comparison of right ventricular systolic pressure among four groups ($\bar{x} \pm s, n=12$)

		因素 B (氯沙坦钾处置因素)	
		B1 (空白)	B2 (氯沙坦钾)
因素 A (香烟)	A1 (空白)	23.1 $\pm$ 2.0	22.5 $\pm$ 2.0
	A2 (+ 香烟)	37.9 $\pm$ 7.4	25.9 $\pm$ 3.0

注: $F_{\text{因素A}} = 165.650, P_{\text{因素A}} = 0.000; F_{\text{因素B}} = 79.376, P_{\text{因素B}} = 0.000; F_{\text{A} \times \text{B}} = 64.437, P_{\text{A} \times \text{B}} = 0.000$



A. 对照组; B. 对照 + 氯沙坦钾组; C. 香烟暴露组; D. 香烟暴露 + 氯沙坦钾组; a, 与对照组比较, $P < 0.05$; b, 与香烟暴露组比较, $P < 0.05$

图 1 4 组大鼠 RVSP 值 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig.1 RVSP in four groups ($\bar{x} \pm s, n=12$)

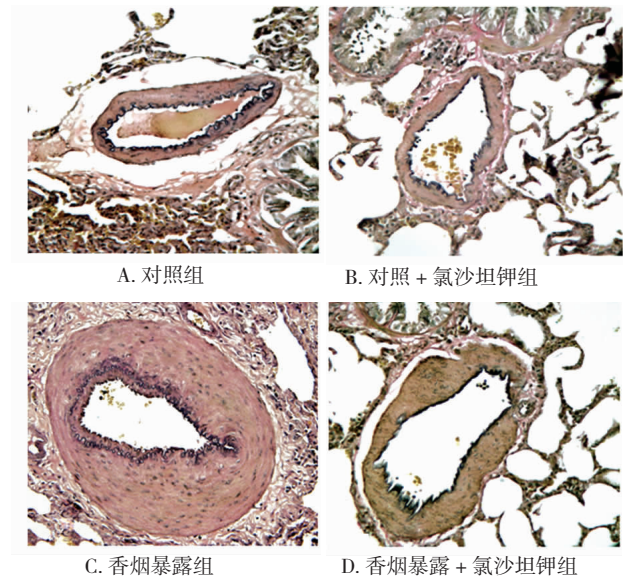


图 2 4 组大鼠肺组织 Van Gieson 染色法结果

Fig.2 Van Gieson staining results of four groups

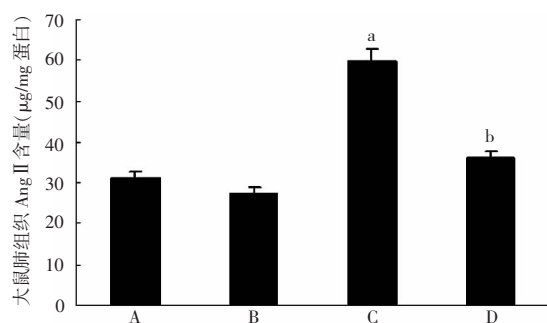
经析因方差分析: 香烟暴露因素 (A 因素) 的两水平间有统计学差异 ($P < 0.05$), 提示香烟对大鼠右室收缩压值有很大的影响; 氯沙坦钾治疗因素 (B 因素) 的两水平间, 也有统计学差异 ($P < 0.05$), 提示氯沙坦钾治疗对大鼠 RVSP 值也有很大影响。并且, AB 因素的交互作用亦有差别 ($P < 0.05$), 提示经氯沙坦钾治疗后大鼠右室收缩压值的变化非常大, 其变化趋势强烈 (下降)。

经两两比较 (LSD- t 检验) 并结合数据来看: 香烟暴露 6 个月后, 香烟暴露组大鼠 RVSP 明显上升 ($P < 0.05$)。此外, 与对照组相比, 香烟暴露组大鼠的肺动脉内膜增生, 管壁明显增厚, 管腔狭窄 (图 2)。相反, 氯沙坦钾治疗可明显减少香烟诱导引起的肺动脉管壁增厚和 RVSP 增高, 提示氯沙坦钾可减轻由慢性香烟烟雾诱导的肺动脉重构和肺动脉高压。

2.2 香烟烟雾暴露导致的 Ang II 升高及氯沙坦钾对其的治疗作用

放射免疫法检测香烟暴露 6 个月后大鼠肺组织中 Ang II 的浓度。如图 3 所示, 对照组 (A1B1)、对照 + 氯沙坦钾组 (A1B2)、香烟暴露组 (A2B1) 及香烟暴露 + 氯沙坦钾组等 4 个组分别为: (32.12 $\pm$ 2.76)、(28.43 $\pm$ 2.83)、(60.16 $\pm$ 3.76)、(33.10 $\pm$ 2.93) μ g/mg 蛋白。经析因方差分析: 香烟暴露因素 (A 因素) 的 2 水平间有统计学差异 (F, P 分别为 93.742、0.000), 提示香烟对 Ang II 值有很大的影响; 氯沙坦钾治疗因素 (B 因素) 的 2 水平间, 差异也有统计学意义 (F, P 分别为 81.312、0.000), 提示氯沙坦钾治疗对大鼠 Ang II 值也有很大影响。并且, AB 因素的交互作用亦有统计学差别 (F, P 分别为 114.560、0.000), 提示经氯沙坦钾治疗后大鼠 Ang II 值的变化非常大, 其变化趋势强烈 (下降)。

再经两两比较并结合数据来看: 慢性香烟暴露组大鼠肺组织中 Ang II 表达水平较对照组明显增高, 这一作用被氯沙坦钾治疗所抑制 ($P < 0.05$)。



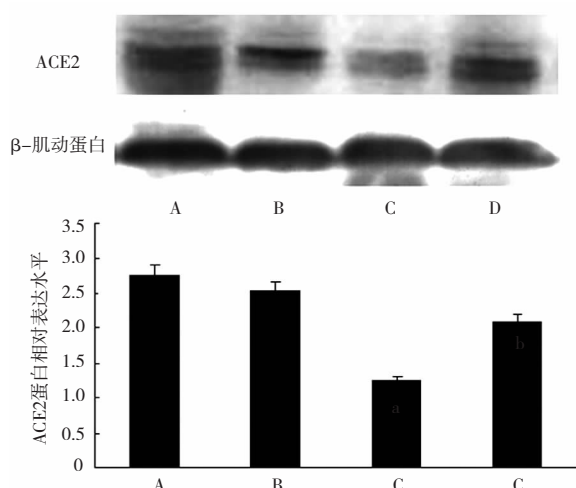
A. 对照组; B. 对照 + 氯沙坦钾组; C. 香烟暴露组; D. 香烟暴露 + 氯沙坦钾组; a, 与对照组比较, $P < 0.05$; b, 与香烟暴露组比较, $P < 0.05$

图 3 放射免疫法测定 4 组大鼠肺组织 Ang II 的表达水平

Fig.3 Expression of Ang II in lung tissues in four groups detected by radioimmunoassay

2.3 香烟烟雾诱导的肺动脉高压大鼠肺组织中 ACE2 表达降低及氯沙坦钾对其的治疗作用

为进一步探讨香烟诱导的肺动脉高压大鼠肺组织 Ang II 含量升高的机制,用 Western blot 法检测香烟暴露组大鼠的 ACE2 表达水平。对照组(A1B1)、对照+氯沙坦钾组(A1B2)、香烟暴露组(A2B1)及香烟暴露+氯沙坦钾组 4 个组分别为: 2.76 ± 0.23 , 2.47 ± 0.25 , 1.15 ± 0.08 , 2.06 ± 0.18 。经析因方差分析:基本同前面所述相近:香烟暴露因素(A 因素)的两水平间有统计学差异(F 、 P 分别为 121.762、0.000),提示香烟对大鼠肺组织 ACE2 值有很大的影响;氯沙坦钾治疗因素(B 因素)的 2 水平间,差异也有统计学意义(F 、 P 分别为 68.438、0.000),提示氯沙坦钾治疗对大鼠肺组织 ACE2 值也有影响。并且,AB 因素的交互作用亦有统计学差异(F 、 P 分别为 131.021、0.000),提示经氯沙坦钾治疗后大鼠肺组织 ACE2 值的变化非常大,其变化趋势强烈(恢复上升)。



A. 对照组; B. 对照 + 氯沙坦钾组; C. 香烟暴露组; D. 香烟暴露 + 氯沙坦钾组; a, 与对照组比较, $P < 0.05$; b, 与香烟暴露组比较, $P < 0.05$

图 4 Western blotting 法检测肺组织中 ACE2 的蛋白表达

Fig.4 ACE2 protein expression in lung tissues in four groups detected by Western blot

也经两两比较并结合数据来看:Western blot 法光密度分析显示:香烟暴露组大鼠肺组织 ACE2 的表达明显减少。氯沙坦钾治疗后香烟暴露+氯沙坦钾组大鼠肺组织 ACE2 表达水平升高,说明氯沙坦钾可在一定程度上逆转香烟诱导的 ACE2 表达的减少(图 4)。

3 讨论

近年来发现人体暴露于香烟烟雾的主要成分——尼古丁中时,可致血管内皮细胞中 ACE 表达和活性增加,ACE2 表达和活性减少^[8]。据报道,豚鼠及大鼠暴露于香烟烟雾 6 个月后可增加肺小动脉肌化程度,使肺动脉压力升高^[9]。本研究与以上研究一致,发现香烟暴露 6 个月可致大鼠肺动脉血管内膜增生、管壁明显增厚、管腔狭窄, RVSP 显著升高,提示出现了肺动脉重构和肺动脉高压。

香烟烟雾暴露可激活体内 RAS 系统,升高 Ang II 水平,后者在 RAS 系统中起关键作用。Anderson 等^[10]报道低氧和野百合碱处理的肺动脉高压模型大鼠体内可观察到 RAS 系统激活和 Ang II 表达水平升高,并且 Ang II 被证实通过作用于 AT1 受体在肺动脉高压中起重要的作用。本研究发现与对照组大鼠相比,暴露于香烟烟雾中 6 个月的肺动脉高压大鼠肺组织中 Ang II 表达水平增加了近一倍。本研究提出香烟烟雾暴露诱导的肺动脉重构和肺动脉高压中也存在 RAS 系统的激活。

氯沙坦钾是一种特异性 Ang II 受体拮抗剂,直接阻断 Ang II 与 AT1 受体结合。氯沙坦钾对低氧环境下的肺动脉高压模型大鼠和动静脉分流所致的肺动脉高压模型小猪的治疗作用已被报道^[6]。ACE2 将 Ang II 降解为 Ang(1~7),抑制 ACE2 可增加肾脏 Ang II 水平和蛋白尿,氯沙坦钾可阻断 Ang II 与 AT1 受体结合增加肾脏皮质 ACE2 的蛋白表达^[10]。本研究结果显示氯沙坦钾对香烟烟雾暴露诱导的大鼠肺动脉重构和 RVSP 增高有明显抑制作用。香烟暴露组大鼠给予氯沙坦钾治疗后与单纯香烟暴露组大鼠相比,观察到大鼠肺动脉重构和肺动脉高压改善的同时肺组织中 Ang II 水平显著降低,说明氯沙坦钾减少了香烟烟雾诱导的大鼠肺动脉高压所致的 Ang II 水平升高,即氯沙坦钾抑制了香烟烟雾诱导的肺动脉高压大鼠肺组织中 Ang II 的水平和作用。在 RAS 系统中,ACE 分解 Ang I 生成强效

血管收缩剂 Ang II, RAS 系统中的新成员——ACE2 水解 Ang I 生成负向调节蛋白 Ang(1~7)。一些实验已证实氯沙坦钾可高效地增加大鼠心肌或人类肾脏中 ACE2 的活性和蛋白表达量^[11]。增加 ACE2 可加快 Ang II 转化为 Ang(1~7), 降低 Ang II 的浓度。

ACE2 的保护作用已被证实, 但其在人类和实验性肺纤维化中的表达却减少。最近的研究中, XNT-ACE2 合成的催化剂具有阻止野百合碱诱导的肺动脉高压模型大鼠 RVSP 的升高、右心室肥厚、肺血管壁增厚等作用^[12]。本实验结果显示香烟暴露 6 个月的大鼠出现肺动脉重构和肺动脉高压, 同时肺组织内 ACE2 的蛋白表达也显著减少。本研究结果证实氯沙坦钾可能对香烟诱导的肺动脉重构和肺动脉高压有治疗作用, ACE2 可能参与了肺动脉重构和肺动脉高压的发病机制。

总之, 慢性香烟烟雾暴露诱导大鼠肺动脉重构和肺动脉高压, 肺组织 Ang II 表达水平升高及 ACE2 表达水平降低。结果显示氯沙坦钾治疗后可有效地逆转香烟烟雾诱导的肺动脉重构和肺动脉高压, 降低肺组织 Ang II 的水平, 并可以增加肺动脉高压大鼠肺组织 ACE2 蛋白的表达量, 增加 ACE2 表达既可加快 Ang II 向 Ang(1~7) 等转化, 降低 Ang II 的浓度。氯沙坦钾治疗肺动脉高压的作用可能归因于氯沙坦钾诱导的 ACE2 水平的升高。因此, 慢性香烟烟雾暴露可能是依赖于 Ang II 及其受体机制来调节 ACE2 蛋白表达的减少, 其详细机制尚需进一步实验证实。氯沙坦钾诱导的 ACE2 水平的升高可能成为抑制慢性香烟诱导的肺血管重构和降低肺动脉高压的治疗药物, 而使 ACE2 表达升高可能是其作用机制之一。

参 考 文 献

[1] Guillevin L, Armstrong I, Aldrichetti R, et al. Understanding the im-

pact of pulmonary arterial hypertension on patients and carers lives[J]. Eur Respir Rev, 2013, 22(130):535-542.

[2] Sitbon O, Morrell NW. Pathways in pulmonary arterial hypertension: the future is here[J]. Eur Respir Rev, 2012, 21(126):321-327.

[3] Wideman RF, Rhoads DD, Erf GF, et al. Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: a review[J]. Poult Sci, 2013, 92(1):64-83.

[4] Anderson JF, Vinayak SY, Rodrigo, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 activation protects against hypertension-induced cardiac fibrosis involving extracellular signal-regulated kinases [J]. Exp Physiol, 2011, 96(3):287-294.

[5] Wang T, Su XH, Fu QW, et al. Role of chymase in cigarette smoke-induced pulmonary artery remodeling and pulmonary hypertension in hamsters[J]. Respir Res, 2010(11):36.

[6] Rondelet B, Dewachter C, Kerbaul F, et al. Prolonged overcirculation-induced pulmonary arterial hypertension as a cause of right ventricular failure[J]. Eur Heart J, 2012, 33(8):1017-1026.

[7] Vaibhav BP, Sreedhar BR, Subhash KD, et al. Loss of angiotensin-converting enzyme-2 exacerbates diabetic cardiovascular complications and leads to systolic and vascular dysfunction: a critical role of the angiotensin II/AT1 receptor axis[J]. Circ Res, 2012, 110(10):1322-1335.

[8] Liza L, Urban A, Toste L, et al. The association between circulating angiotensin-converting enzyme and cardiovascular risk in the elderly: a cross-sectional study[J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2011, 12(3):281-289.

[9] Milara J, Serrano A, Peiró T, et al. Acridinium inhibits cigarette smoke-induced lung fibroblast-to-myofibroblast transition[J]. Eur Respir J, 2013, 41(6):1264-1274.

[10] María JS, Jan Wysocki, Daniel Battle et al. ACE2 alterations in kidney disease[J]. Nephrol Dial Transplant. 2013, 28(11):2687-2697.

[11] Masaru I, Hiroto N, Izumi S, et al. Possible involvement of angiotensin-converting enzyme 2 and mas activation in inhibitory effects of angiotensin II type 1 receptor blockade on vascular remodeling[J]. Hypertension, 2012, 60(1):137-144.

[12] Ferreira AJ, Shenoy V, Yamazato Y, et al. Evidence for angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for the prevention of pulmonary hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(11):1048-1054.

(责任编辑:冉明会)