

氯膦酸二钠脂质体改善高血压小鼠血管内皮细胞功能及心肌肥厚

刘彦彬^{1,2}, 黄蕾^{1,3}, 张英杰², 林宇涵¹, 周明生¹

(锦州医科大学 1. 生理学教研室, 2. 第一附属医院心内科, 3. 第一附属医院肾内科, 辽宁省锦州市 121000)

[关键词] 血管紧张素 II; 高血压; 心脏肥大; 内皮细胞功能障碍; 巨噬细胞

[摘要] **目的** 探讨巨噬细胞在血管紧张素 II (Ang II) 高血压引起内皮细胞功能障碍和心肌肥厚中的作用及机制。**方法** C57BL/6 小鼠随机分为正常+PBS 组、正常+氯膦酸二钠脂质体 (CL) 组、Ang II +PBS 组和 Ang II +CL 组。通过尾静脉注射 PBS 或 CL, 采用植入式胶囊渗透泵灌注 Ang II。采用小鼠尾套法测量小鼠治疗前、治疗第 7 天、第 14 天收缩压; 通过 HE 染色法观察小鼠心肌细胞肥厚程度; 血管环张力实验检测血管内皮依赖性舒张功能; Western blot 检测磷酸化内皮型一氧化氮合酶 (p-eNOS)、p-ERK1/2、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、生长转化因子 β 1 (TGF- β 1) 和纤维连接蛋白的变化。**结果** 与正常组+PBS 组比较, Ang II +PBS 组动脉收缩压增加了 44% ($P < 0.05$)、巨噬细胞在心脏组织中的浸润增加了 54% ($P < 0.05$)、心肌重量增加 29% ($P < 0.05$)、单个心肌细胞面积增加了 48% ($P < 0.05$)、血管舒张功能降低了 35% ($P < 0.05$)。与 Ang II +PBS 组相比, Ang II +CL 组动脉收缩压下降了 25.28% ($P < 0.05$)、单个心肌细胞面积减小了 38.83% ($P < 0.05$)、血管内皮舒张功能改善了 12.63% ($P < 0.05$)。Western blot 检测显示, Ang II +CL 逆转了 p-eNOS、p-ERK1/2、TNF- α 、IL-1 β 、TGF- β 1 及纤维连接蛋白的表达 ($P < 0.05$)。**结论** 在 Ang II 高血压小鼠中氯膦酸二钠脂质体能改善血管内皮细胞功能, 抑制心肌肥厚和重塑, 其机制可能与降低心肌组织巨噬细胞浸润和巨噬细胞来源的炎症因子诱导的炎症以及增加 p-eNOS 有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Clodronate liposome ameliorated endothelial function and cardiac hypertrophy in angiotensin II hypertensive mice

LIU Yan-Bin^{1,2}, HUANG Lei^{1,3}, ZHANG Ying-Jie², LIN Yu-Han¹, ZHOU Ming-Sheng¹

(1. Department of Physiology, 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, 3. Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121000, China)

[KEY WORDS] Angiotensin II; Hypertension; Cardiac hypertrophy; Endothelial dysfunction; Macrophage

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role and mechanism of macrophage in endothelial dysfunction and cardiac hypertrophy in AngII-induced hypertensive mice. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: normal +PBS group, normal+clodronate liposome (CL) group, Ang II+PBS group, Ang II+CL group. PBS or CL was injected via tail vein, and Ang II was delivered by implantation of osmotic mini-pump. The systolic blood pressure (SBP) was measured by tail-cuff method, SBP was measured at 3 time points: at baseline, 7 days and 14 days after AngII infusion. HE staining was used to measure myocardial hypertrophy, endothelium dependent relaxation to acetylcholine in aortic rings was determined by organ chamber bath, the protein expression of p-eNOS, p-ERK1/2, TNF- α , IL-1 β , TGF- β 1, fibronectin was determined by Western blot. **Results** Compared with the normal+PBS mice, AngII+PBS significantly increased systolic blood pressure (44%, $P < 0.05$), macrophage infiltration in myocardial tissue (54%, $P < 0.05$), heart weight (29%, $P < 0.05$) as well as single myocardial cell area (48%, $P < 0.05$), impaired acetylcholine-induced endothelium dependent relaxation (E_{\max} -35%, $P < 0.05$). The treatment with CL significantly reduced SBP (-25.28%, $P < 0.05$), the area of single myocardial cell (-38.83%, $P < 0.05$), and improve acetylcholine-induced endothelium dependent relaxation (E_{\max} 12.63%, $P < 0.05$) in Ang

[收稿日期] 2016-10-26

[修回日期] 2017-01-24

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81470532、81670384)

[作者简介] 刘彦彬, 硕士研究生, 研究方向为临床心血管内科, E-mail 为 15841662679@163.com。通讯作者周明生, 博士, 教授, 研究方向为临床心血管内科, E-mail 为 zhoums1963@163.com。

II hypertensive mice. CL treatment also restored the expression of p-eNOS, p-ERK1/2, TNF- α , IL-1 β , TGF- β 1, fibronectin induced by AngII ($P < 0.05$). **Conclusions** The results demonstrate that CL protects against AngII-induced endothelial dysfunction and myocardial damage and remodeling, the underlying mechanisms may involve reduction in myocardial macrophage infiltration and macrophage-derived cytokines.

高血压是引起心血管疾病的一个主要危险因素,也是引起心肌肥厚的重要病因^[1-3]。但是高血压引起心肌肥厚的病理机制还不清楚。近年来研究表明高血压是一种慢性非特异性血管炎症性疾病,免疫系统与高血压及其高血压心肌肥厚的发生发展息息相关^[4-5]。在各种实验性高血压动物模型中都观察到免疫细胞,特别是单核/巨噬细胞在血管、心脏组织中的浸润。巨噬细胞可释放炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)等引起血管和心肌组织的炎症、氧化应激反应以及促进血管和心肌组织的纤维化和再生,从而可能促进心肌肥厚的发生^[6]。然而,目前巨噬细胞在高血压心肌肥厚中的作用还存有争议。

血管紧张素II (angiotensin II, Ang II)是一个前置性炎症调节因子,Ang II高血压心肌肥厚常伴有免疫细胞,尤其是单核/巨噬细胞在心脏及血管组织中的浸润。本研究在血管紧张素II诱导的高血压心脏肥厚小鼠模型中,通过尾静脉注射氯膦酸二钠脂质体 (clodronate liposome, CL)的方法去除单核巨噬细胞,研究巨噬细胞去除对Ang II引起心肌肥厚的影响,从而明确巨噬细胞在高血压肥厚中的作用及其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

24只8~10周的雄性C57BL/6小鼠(约25g),清洁级,购买于北京维通利华生物有限公司。在锦州医科大学SPF级动物实验中心饲养。

1.2 主要试剂与耗材

AngII(10 mg)-A9525 (Sigma); p-eNOS (Ser1177)多克隆抗体 (#9571S, 兔来源, Cell Signaling); p-ERK1/2多克隆抗体 (Thr202/Tyr204, 兔来源, Cell Signaling); 纤维连接蛋白多克隆抗体 (H-300, Sc-9068, #B0359, 兔来源, Santa); IL-1 β 多克隆抗体 (H-153, Sc-7884, #J0915, 兔来源, Santa); TGF- β 1多克隆抗体 (MAB2401, 小鼠来源, R&D); TNF- α 多克隆抗体 (L-19, Sc-1351, #G3115, 羊来源, Santa), CD68多克隆抗体 (Sc-59103, 小鼠来源, Santa); 脂质体 (5 mL, 美国

FormuMax公司); 脂质体包裹氯膦酸二钠 (5 mL, 美国FormuMax公司); 伊红染液 (Gat#G1100) (100 mL, Solarbio); 苏木素染色液 (Gat#G1140) (100 mL, Solarbio)。

1.3 实验分组

实验前将8~10周龄的雄性C57BL/6小鼠采用尾套法测量收缩压 (systolic blood pressure, SBP)并记录,筛选出24只小鼠,体重约25g,收缩压90~120 mmHg,随机分4组,每组6只。第1组为正常+PBS组:在肩背部做一假切口并缝合,尾静脉注入脂质体包裹PBS (0.1 mL/10 g, 每隔3天注射1次)。第2组为正常+CL组:在肩背部做一假切口并缝合,尾静脉注入脂质体包裹氯膦酸二钠 (0.1 mL/10 g, 每隔3天注射1次)。第3组为Ang II+PBS组:采用植入式胶囊渗透泵灌注Ang II (每天1.4 mg/kg)持续治疗2周,从尾静脉注射PBS (0.1 mL/10 g, 每隔3天注射1次)。第4组为Ang II+CL组:采用植入式胶囊渗透泵灌注Ang II (每天1.4 mg/kg)持续治疗2周,尾静脉注入脂质体包裹氯膦酸二钠 (0.1 mL/10 g, 每隔3天注射1次)。尾静脉注射氯膦酸二钠脂质体后第2天,取小鼠尾部血液做血涂片进行吉姆萨染色,并以外周血中的粒细胞减少80%作为有效去除巨噬细胞的标准^[7]。

1.4 动脉收缩压的测定

分别在Ang II治疗前、治疗第7天和14天通过尾套法测定小鼠动脉收缩压。

1.5 血管环张力检测

分离胸主动脉并切成3 mm主动脉环,将动脉环穿在恒温浴槽的2个钢丝上,平衡后给予含60 mmol/L KCl的PPS预收缩2次,反复洗去KCl,给以去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)预收缩血管,收缩稳定后加入累积剂量的乙酰胆碱 (10^{-9} ~ 10^{-5} mol/L)诱导血管内皮依赖性舒张功能 (endothelium dependent relaxation, EDR)反应。血管舒张反应以NE引起的血管收缩幅度为分母,用不同浓度乙酰胆碱诱导的血管舒张幅度与之比较的百分比表示。

1.6 心脏称重

取小鼠全心,吸水纸吸干液体,称重,用全心重量与体重之比作为心脏重量比。

1.7 心脏组织学检测

取新鲜小鼠左心室组织浸泡于 4%多聚甲醛进行固定,包埋,制成石蜡切片。采用 HE 染色、免疫组化法观察心脏组织肥厚程度和心脏组织中炎症细胞浸润。HE 染色方法参考伊红染色液和苏木素染色液说明书。CD68 阳性细胞计数为高倍镜下随机选 10 个视域求其面积取均值,计算每个视域阳性细胞的个数并取其均值,巨噬细胞个数与单个视域面积比为 CD68 计数结果。CD68 阳性细胞为胞浆内褐色颗粒样着色的细胞。

1.8 Western blot 检测

用 Western blot 方法检测分析小鼠心脏磷酸化内皮型一氧化氮合酶 (p-endothelial nitric oxide, p-eNOS)、p-ERK1/2、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、生长转化因子 β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 和纤维连接蛋白的表达水平。

1.9 统计学方法

数据采用 SPSS17.0 软件进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用百分构成比表示。多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠收缩压的比较

如图 1 所示,各组小鼠的基础动脉收缩压没有明显的差异。与正常+PBS 组比较,Ang II +PBS 组、Ang II +CL 组小鼠收缩压在第 7 天已显著增加,升高的血压稳定并持续到第 14 天;氯膦酸二钠脂质体治疗后小鼠收缩压明显下降 ($P < 0.05$)。

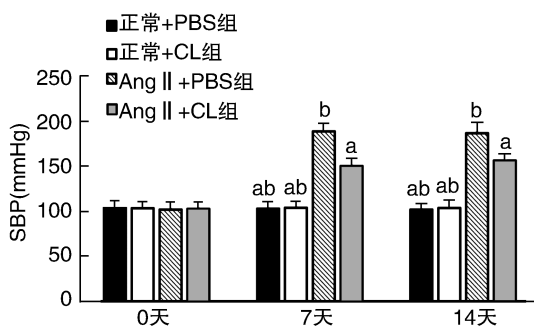


图 1 氯膦酸二钠脂质体对收缩压的影响 ($n=6$) a 为 $P < 0.05$,与 Ang II +PBS 组比较;b 为 $P < 0.05$,与 Ang II +CL 组比较。

Figure 1. Effect of CL on SBP in Ang II hypertensive mice ($n=6$)

2.2 各组心肌细胞面积和心脏重量比的比较

HE 染色可见,Ang II +PBS 组小鼠的心肌明显肥厚(单个心肌细胞面积增加了 48%),且可看出心肌结构排列紊乱。氯膦酸二钠脂质体治疗后小鼠心肌肥厚明显改善(图 2)。此外,Ang II +CL 组与 Ang II +PBS 组比较,心脏重量比降低了 29%(图 3)。

2.3 各组小鼠血管内皮依赖性舒张功能的改变

与正常+PBS 组比较,Ang II+PBS 组明显损伤 EDR (E_{max} : $100\% \pm 7\%$ 比 $74\% \pm 10\%$, $P < 0.05$; ED_{50} : $7.7 \pm 0.34 -\log \text{ mol/L}$ 比 $7.2 \pm 0.16 -\log \text{ mol/L}$)。与 Ang II+PBS 组比较,Ang II+CL 组明显改善 EDR (E_{max} 为 $88\% \pm 9\%$, $P < 0.05$; ED_{50} 为 $7.48 \pm 0.31 -\log \text{ mol/L}$; 图 4 和图 5)。

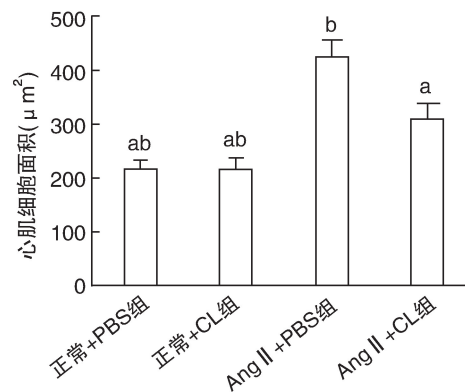
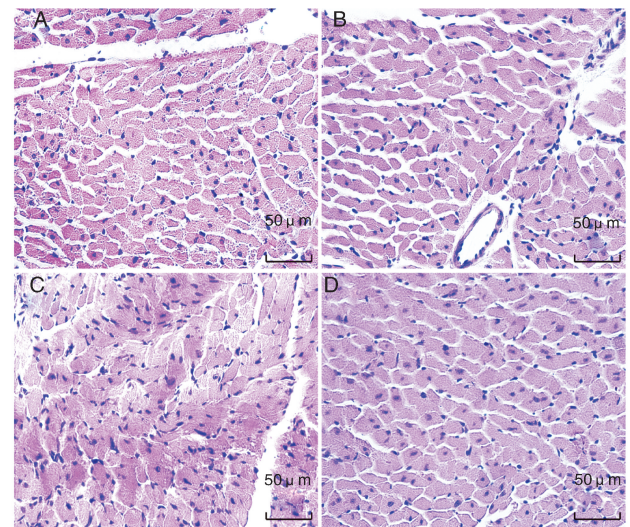


图 2 各组小鼠心肌细胞面积的比较 ($n=6$) 上图为 HE 染色结果,下图为单个心肌细胞面积的定量分析结果。A 为正常+PBS 组,B 为正常+CL 组,C 为 Ang II +PBS 组,D 为 Ang II +CL 组。a 为 $P < 0.05$,与 Ang II +PBS 组比较;b 为 $P < 0.05$,与 Ang II +CL 组比较。

Figure 2. Comparison of myocardial cell area in each group ($n=6$)

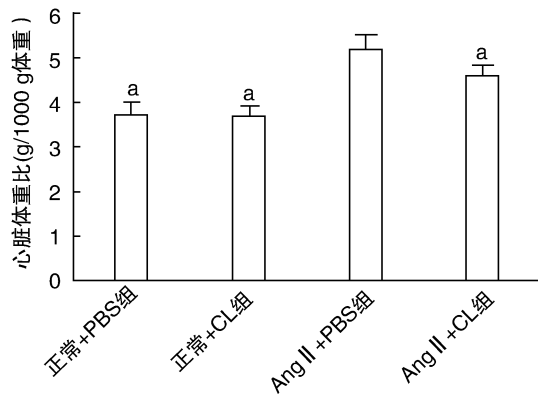


图 3. 氯膦酸二钠脂质体对 Ang II 高血压小鼠心脏重量比的影响 ($n=6$) a 为 $P<0.05$, 与 Ang II +PBS 组比较。

Figure 3. Effect of CL on heart weight in AngII hypertensive mice ($n=6$)

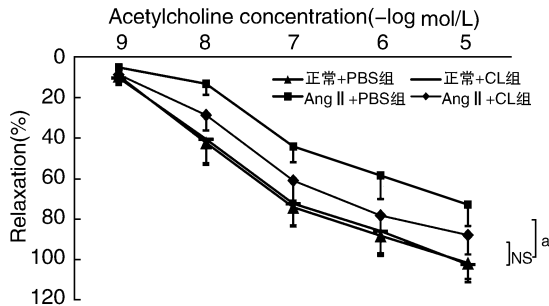


图 4. 氯膦酸二钠脂质体对 Ang II 高血压小鼠血管内皮功能的影响 ($n=6$) NS 为无差异; a 为 $P<0.05$, 与 Ang II +PBS 组比较。

Figure 4. Effect of CL on endothelium dependent relaxation to acetylcholine in the aorta of AngII hypertensive mice ($n=6$)

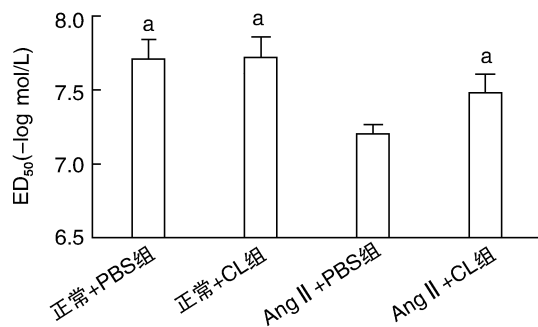


图 5. 氯膦酸二钠脂质体对 ED₅₀ 的改变 ($n=6$) ED₅₀ 是血管达到最大舒张能力一半时所需要的乙酰胆碱的浓度。a 为 $P<0.05$, 与 Ang II +PBS 组比较。

Figure 5. Effect of CL on ED₅₀ to acetylcholine in the aorta of Ang II hypertensive mice ($n=6$)

2.4 心肌巨噬细胞浸润情况

采用 CD68 标记全体巨噬细胞,结果显示,与正

常+PBS 组比较,正常+CL 组巨噬细胞浸润明显减少 ($P<0.05$); Ang II +PBS 组小鼠心脏中巨噬细胞浸润明显增多;与 Ang II +PBS 组比较,Ang II +CL 组巨噬细胞浸润明显减少 ($P<0.05$; 图 6)。

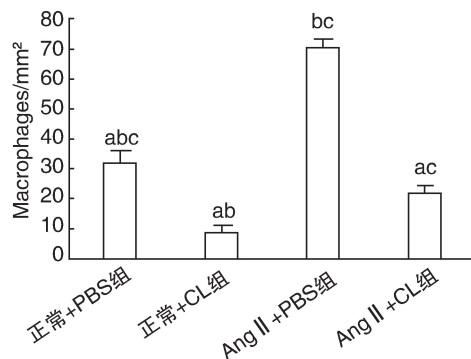
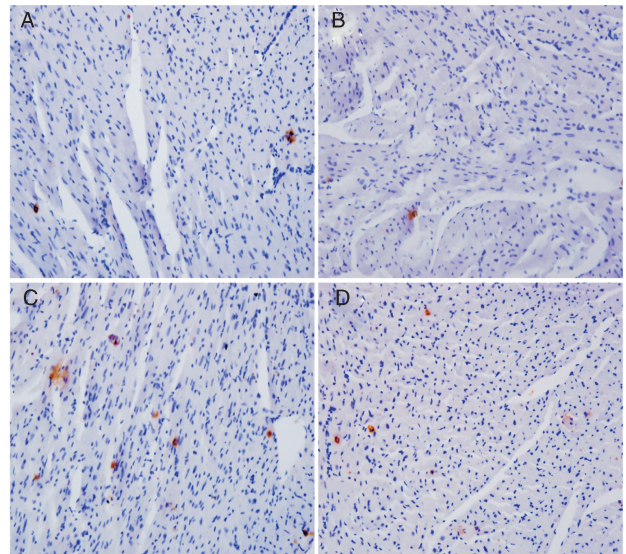


图 6. 氯膦酸二钠脂质体治疗 Ang II 高血压小鼠后 CD68 免疫组化检测结果 上图 ($\times 200$) 为免疫组化结果,下图为巨噬细胞计数的定量分析结果 ($n=6$)。A 为正常+PBS 组,B 为正常+CL 组,C 为 Ang II+PBS 组,D 为 Ang II+CL 组。 a 为 $P<0.05$, 与 Ang II +PBS 组比较;b 为 $P<0.05$, 与 Ang II +CL 组比较;c 为 $P<0.05$, 与正常+CL 组比较。

Figure 6. The CD68 expression determined by immunohistochemistry analysis in CL-treated Ang II hypertensive mice

2.5 各组 p-ERK1/2 和 p-eNOS 的表达

Western blot 结果显示,与正常+PBS 组比较, Ang II +PBS 组小鼠 p-ERK1/2 表达显著增加(增加 72%), p-eNOS 表达显著减少(减少 51%),而氯膦酸二钠脂质体治疗后,Ang II +CL 组小鼠 p-ERK1/2 表达较 Ang II +PBS 组降低 23%, p-eNOS 表达较 Ang II +PBS 组增加 38% (图 7)。

2.6 各组 TNF- α 和 IL-1 β 的表达

TNF- α 和 IL-1 β 是巨噬细胞来源重要的炎症细胞

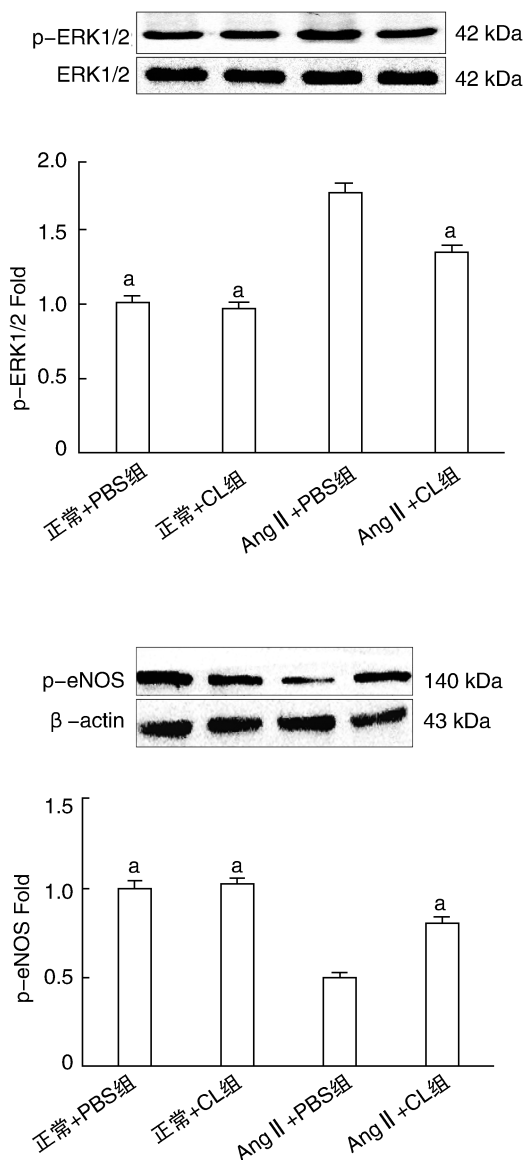


图 7. 氯膦酸二钠脂质体对 Ang II 高血压小鼠 p-ERK1/2 和 p-eNOS 表达的影响 (n=6) a 为 P<0.05, 与 Ang II+PBS 组比较。

Figure 7. Effect of CL on the expression of p-ERK1/2 and p-eNOS in Ang II hypertensive mice (n=6)

因子。如图 8 所示,与正常+PBS 组比较,AngII+PBS 组明显增加炎症因子 TNF- α (增加 94%) 和 IL-1 β (增加 78%) 的表达。氯膦酸二钠脂质体治疗后高血压小鼠心脏中的 TNF- α 表达降低 28%, IL-1 β 表达降低 27%。

2.7 各组 TGF- β 1 和纤维连接蛋白的表达

TGF- β 1 及其下游分子纤维连接蛋白是调节细胞基质和纤维化反应的重要的纤维因子。如图 9 所示,与正常+PBS 组比较,Ang II+PBS 组明显增加炎症因子 TGF- β 1 (增加 65%) 和纤维连接蛋白 (增加 48%) 的表达,氯膦酸二钠脂质体治疗后高血压小鼠心脏中的 TGF- β 1 表达降低 20%,纤维连接蛋白表

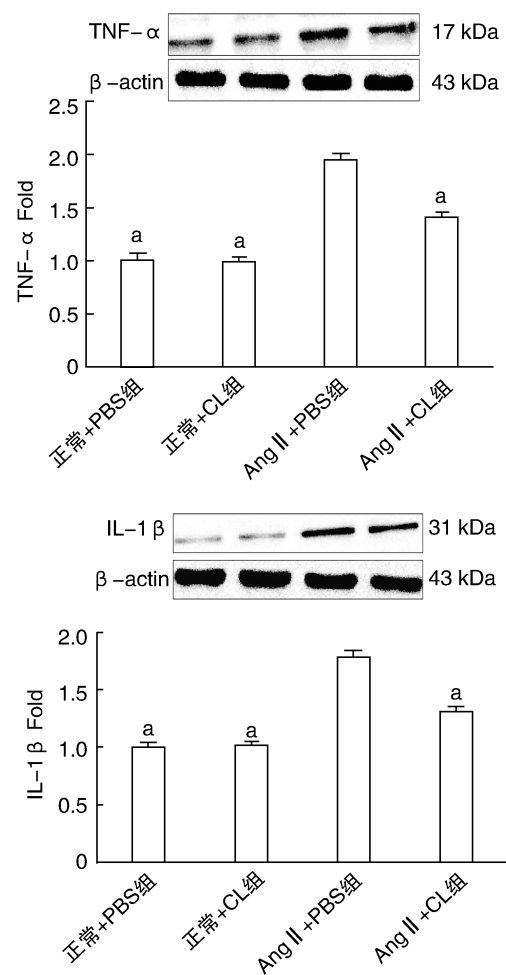


图 8. 氯膦酸二钠脂质体对 Ang II 高血压小鼠 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响 (n=6) a 为 P<0.05, 与 Ang II+PBS 组比较。

Figure 8. Effect of CL on the expression of TNF- α and IL-1 β in Ang II hypertensive mice (n=6)

达降低 22%。

3 讨论

膦酸二钠脂质体是目前被广泛应用于去除动物体内器官和组织中巨噬细胞的工具药物,氯膦酸二钠脂质体经尾静脉进入循环后被单核/巨噬细胞识别、吞噬,进而诱导巨噬细胞凋亡^[8]。有研究表明通过尾静脉注射氯膦酸二钠脂质体能有效地去除血液循环中 80%、组织浸润中 70% 的巨噬细胞^[9]。巨噬细胞浸润与高血压心肌损害有着密切的关系。本研究通过在 Ang II 诱导的高血压心肌肥厚小鼠尾静脉注射氯膦酸二钠脂质体去除巨噬细胞,结果表明,氯膦酸二钠脂质体有效地减少了血液循环中的单核细胞及心脏组织中的巨噬细胞浸润,抑制 Ang II 引起的血压升高和心肌肥厚,改善乙

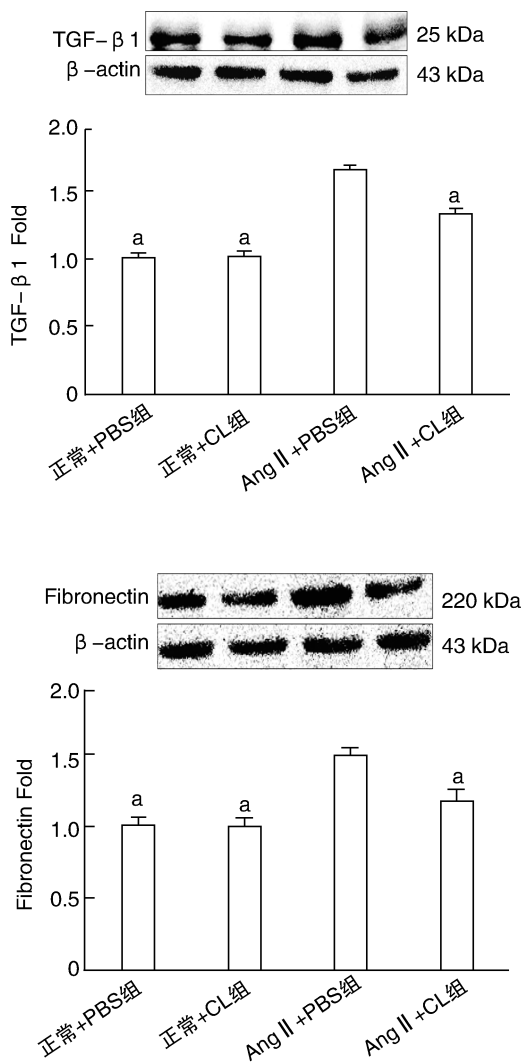


图9. 氯膦酸二钠脂质体对 Ang II 高血压小鼠 TGF- β 1 和纤维连接蛋白表达的影响 ($n=6$) a 为 $P<0.05$, 与 Ang II + PBS 组比较。

Figure 9. Effect of CL on the expression of TGF- β 1 and fibronectin in AngII hypertensive mice ($n=6$)

酰胆碱诱导的血管内皮依赖性舒张反应,同时降低炎症因子的表达以及增加了 p-eNOS 的表达。这些结果提供了直接证据支持巨噬细胞在高血压心肌肥厚和血管功能障碍中起着非常重要的作用。

Ang II 诱导高血压心肌肥厚常伴有巨噬细胞的浸润,心肌浸润的巨噬细胞可释放细胞炎症因子如 TNF- α 和 IL-1 β 引起心脏和血管功能障碍和再调。TNF- α 和 IL-1 β 也是 M1 炎性型巨噬细胞激活的一个标示。心肌组织中的 TNF- α 和 IL-1 β 可产生于心肌细胞本身或浸润的巨噬细胞,但后者可能是主要来源。TNF- α 通过与 TNF- α 受体结合可影响多条信号通路,如激活 NF- κ B 通路诱导组织的炎症^[10],

刺激 NADPH 氧化酶增加氧化应急反应,抑制 eNOS 降低 NO 的产生。这些可导致血管和心肌组织功能和结构的损伤。本研究发现 Ang II 引起血压升高、心肌肥厚和血管内皮依赖性血管舒张功能障碍,并明显地增加心肌组织中浸润的巨噬细胞数量和炎症细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达,氯膦酸二钠脂质体降低心肌巨噬细胞的浸润及 TNF- α 和 IL-1 β 的表达,同时降低血压和心肌肥厚,改善血管内皮细胞功能。尽管氯膦酸二钠脂质体在正常小鼠中也减少组织中的巨噬细胞,但没有降低炎症细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达。对于这个结果的解释可能是在正常心肌组织中的巨噬细胞多为 M2 型巨噬细胞,而 M2 型巨噬细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 减少。因此推测氯膦酸二钠脂质体可能通过减少在心脏和血管中 M1 巨噬细胞以及巨噬细胞分泌的炎症细胞因子而降低血压,改善血管功能和心肌肥厚。

Ang II 具有较强的促心肌肥厚作用^[11]。Ang II 可激活多条信号通路促进心肌肥厚,而激活 MAPK (ERK1/2) 通路是 Ang II 诱导心肌肥厚的一条最重要的细胞内信号通路^[12]。在本研究中,Ang II 组 p-ERK1/2 (ERK1/2 的活性形式) 表达明显增加,这与前人的研究结果是相一致的,而氯膦酸二钠脂质体治疗可显著地抑制 Ang II 诱导的 p-ERK1/2 表达增加。由于还没有文献报道氯膦酸二钠脂质体可直接抑制 ERK1/2 的磷酸化过程,本研究推测在 Ang II 小鼠氯膦酸二钠脂质体抑制 p-ERK1/2 可能与减少 M1 巨噬细胞分泌的炎症细胞因子如 TNF- α 等有关,因为 TNF- α 已报道能促进 ERK1/2 的磷酸化。此外,本研究结果还显示氯膦酸二钠脂质体治疗可改善 Ang II 引起的血管内皮细胞功能障碍以及 p-eNOS 降低。由于修复血管内皮细胞功能可改善心脏的供血,降低血压,而增加 eNOS 来源的 NO 可抑制血管和心肌细胞增殖。因此,氯膦酸二钠脂质体降低高血压心脏损伤也可能部分与其改善血管内皮细胞功能和上调 p-eNOS 有关。

Ang II 心肌损伤还常伴有心肌纤维化,本研究结果显示氯膦酸二钠脂质体可明显地抑制 Ang II 诱导的 TGF- β 1、纤维连接蛋白的表达,而 TGF- β 1 和纤维连接蛋白是重要的调节纤维化过程的细胞因子。尽管本研究没有直接地进行心肌纤维化染色,这些结果可能提示巨噬细胞可能参与 Ang II 诱导的心肌纤维化过程。

综上所述,本研究提供了直接的证据表明巨噬细胞参与 Ang II 高血压介导心脏炎症、心肌肥厚以及血管内皮功能障碍的病理过程。氯膦酸二钠脂

质体通过靶向去除巨噬细胞以及减少浸润组织巨噬细胞分泌的细胞因子而达到降低血压以及减轻高血压介导的心脏损伤的作用,本研究对阐明巨噬细胞在高血压及高血压心肌肥厚中的作用和机制以及开发以去除巨噬细胞为靶目标的降低靶器官损伤的抗高血压治疗提供新思路。

[参考文献]

- [1] Drazner MH. The progression of hypertensive heart disease [J]. *Circulation*, 2011, 123(3): 327-334.
- [2] Cheng S, Vasan RS. Advances in the epidemiology of heart failure and left ventricular remodeling [J]. *Circulation*, 2011, 124(20): 516-519.
- [3] Burchfield JS, Xie M, Hill JA. Pathological ventricular remodeling mechanisms: Part 1 of 2 [J]. *Circulation*, 2013, 128(4): 388-400.
- [4] Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, et al. Inflammation, immunity and hypertension [J]. *Hypertension*, 2011, 57(2): 132.
- [5] Coffman TM. Under pressure; the search for the essential mechanisms of hypertension [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1402-409.
- [6] Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease [J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 445-455.
- [7] Falkenham A, Antueno RD, Rosin N, et al. Nonclassical resident macrophages are important determinants in the development of myocardial fibrosis [J]. *AM J Pathol*, 2015, 185(4): 927-942.
- [8] Van RN, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications. [J]. *J Immunol Methods*, 1994, 174(1-2): 83-93.
- [9] Kain D, Amit U, Yagil C, et al. Macrophages dictate the progression and manifestation of hypertensive heart disease [J]. *Int J Cardio*, 2015, 203: 381-395.
- [10] Liuzzo G, Santamaria M, Biasucci LM, et al. Persistent activation of nuclear factor kappa-B signaling pathway in patients with unstable angina and elevated levels of C-reactive protein: Evidence for a direct proinflammatory effect of azide and lipopolysaccharide-free C-reactive protein on human monocytes [J]. *J AM Coll Cardiol*, 2007, 39(39): 321-322.
- [11] Zhang HX, Jing W, Dong HL, et al. Fibulin-2 deficiency attenuates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy by reducing transforming growth factor- β signalling [J]. *Clin Sci*, 2014, 126(4): 275-288.
- [12] Li L, Zhang ZG, Lei H, et al. Angiotensin II reduces cardiac AdipoR1 expression through AT1 receptor/ROS/ERK1/2/c-Myc pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e49915.

(此文编辑 朱雯霞)