

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2017)25-02-0134-06

## 血管紧张素 II 1 型受体自身抗体与动脉粥样硬化斑块局部炎症的关系

孙艳香<sup>1</sup>, 冯力<sup>1</sup>, 袁勇<sup>1</sup>, 陶军<sup>2</sup>, 黄炫生<sup>1</sup>, 张励庭<sup>1</sup>

(1. 中山大学附属中山医院心血管内科, 广东省中山市 528400; 2. 中山大学附属第一医院高血压血管病科, 广东省广州市 510080)

[关键词] 血管紧张素 II 1 型受体自身抗体; 动脉粥样硬化; 斑块; 基质金属蛋白酶 2

[摘要] **目的** 观察血管紧张素 II 1 型受体自身抗体(AT1-AA)与动脉粥样硬化动物模型粥样斑块局部炎症之间的关系。**方法** 收集高血压合并急性冠状动脉综合征患者 AT1-AA 阳性和阴性的血清并纯化。建立 30 只球囊拉伤所致高脂血症兔动脉粥样硬化模型, 随机分成 6 组: (1) 对照组; (2) 低浓度 AT1-AA [20 μg/(kg·d)] 注射组 (简称 LA 组); (3) 高浓度 AT1-AA [40 μg/(kg·d)] 注射组 (简称 HA 组); (4) 氯沙坦 [20 mg/(kg·d)] 灌胃+高浓度 AT1-AA 注射组 (简称 L+HA 组); (5) 辛伐他汀 [4 mg/(kg·d)] 灌胃+高浓度 AT1-AA 注射组 (简称 S+HA 组); (6) 7aa [1.5 mg/(kg·d)] 灌胃+高浓度 AT1-AA 注射组 (简称 7aa+HA 组), 予以不同的处理。取兔腹主动脉进行 HE 染色, 比较各组斑块所占管腔面积; 同时用 Western blot 检测斑块局部 MMP-2 的表达。**结果** 各组总胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇水平在第 4 周后明显升高。除对照组外, 其他各组在第 8、10 周血清 AT1-AA 水平均明显高于实验开始时。LA 组、HA 组斑块占管腔面积百分值分别为 46.99%±13.06%、66.11%±19.67%, 明显高于对照组 (27.71%±7.46%)、L+HA 组 (34.27%±12.38%)、S+HA 组 (24.03%±8.56%) 及 7aa+HA 组 (28.54%±12.50%) (均  $P < 0.05$ )。LA 组、HA 组 MMP-2 的表达均明显高于其他各组 (均  $P < 0.05$ )。**结论** AT1-AA 可明显促进高脂喂养兔受损动脉内膜处斑块形成, 增强斑块局部炎症反应的发生及细胞增殖。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

### The relationship between angiotensin II type 1 receptor autoantibody and local inflammation of atherosclerotic plaque

SUN Yan-Xiang<sup>1</sup>, FENG Li<sup>1</sup>, YUAN Yong<sup>1</sup>, TAO Jun<sup>2</sup>, HUANG Xuan-Sheng<sup>1</sup>, ZHANG Li-Ting<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Zhongshan Hospital, Sun Yat-sen University, Zhongshan, Guangdong 528400, China; 2. Department of Hypertension &amp; Vascular Diseases, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

[KEY WORDS] Angiotensin II type 1 receptor autoantibody; Atherosclerosis; Plaque; Matrix metalloproteinase-2

[ABSTRACT] **Aim** To observe the relationship between the angiotensin II Type 1 receptor autoantibody (AT1-AA) and the local inflammation of plaques in atherosclerotic animal model. **Methods** AT1-AA positive and negative sera were collected and purified from patients with hypertension complicated with acute coronary syndrome. Atherosclerosis models were established in 30 rabbits with hyperlipidemia induced by balloon injury. The animals were randomly divided into 6 groups: (1) control group; (2) low concentration AT1-AA [20 μg/(kg·d)] injection group (LA group); (3) high concentration AT1-AA [40 μg/(kg·d)] injection group (HA group); (4) losartan [20 mg/(kg·d)] lavage+high concentration AT1-AA injection group (L+HA group); (5) simvastatin [4 mg/(kg·d)] lavage+high concentration AT1-AA injection group (S+HA group); (6) 7aa [1.5 mg/(kg·d)] lavage+high concentration AT1-AA injection group (7aa+HA group). Each group was treated differently. The abdominal aortas of rabbits were taken out and stained with HE. Image-Pro Express system was used to measure the percentage of atheromatous plaques in the area of lumen. The expressions of MMP-2 in aortic tissue were detected by western blot. **Results** The values of total cholesterol and low density

[收稿日期] 2016-06-29

[修回日期] 2016-08-30

[基金项目] 中国博士后科学基金项目(20100470982); 广东省医学科学基金项目(B2010342, A2015182)

[作者简介] 孙艳香, 博士, 副主任医师, 研究方向为心血管免疫学, E-mail 为 syx1298509@163.com。

lipoprotein cholesterol were obviously increased after four weeks. Excluding the control group, the levels of serum AT1-AA in the 8th and 10th week were significantly higher than those at the beginning in the other groups. In LA group and HA group, the relative plaque areas were  $46.99\% \pm 13.06\%$  and  $66.11\% \pm 19.67\%$ , respectively, which were significantly higher than those in control group ( $27.71\% \pm 7.46\%$ ), L+HA group ( $34.27\% \pm 12.38\%$ ), S+HA group ( $24.03\% \pm 8.56\%$ ) and 7aa+HA group ( $28.54\% \pm 12.50\%$ ) (all  $P < 0.05$ ). The expressions of MMP-2 in LA group and HA group were significantly higher than those in other groups (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** AT1-AA can accelerate the atheromatous plaque formation in rabbit atherosclerosis model and promote the inflammatory reaction and cells proliferation in local plaque.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生除与胆固醇集聚、血管壁损伤和管壁平滑肌细胞增殖有关外,炎症和免疫反应贯穿整个 As 疾病过程<sup>[1-4]</sup>。血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 是 As 形成的重要分子,其可促使平滑肌细胞产生单核细胞趋化蛋白 1 及内皮细胞产生黏附分子,并可促进单核细胞与内皮细胞的黏附,从而启动 As 的发病过程;同时促进巨噬细胞摄取氧化低密度脂蛋白变成泡沫细胞等<sup>[5-7]</sup>。Ang II 可促进基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的表达<sup>[8-9]</sup>,而 MMP 通过调节细胞外基质的降解在不稳定斑块破裂和多种血管并发症的发生中扮演重要角色<sup>[10-11]</sup>。既往我们研究已表明血管紧张素 II 1 型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1)自身抗体(AT1 autoantibody, AT1-AA)具有多种拟 Ang II 的生物学效应,如促进细胞内信号分子的表达致细胞增值、致胞内钙增加及血管壁的重构、炎症因子表达等<sup>[12-13]</sup>,而炎症因子在促进冠状动脉 As 及其斑块形成中起到重要作用<sup>[1,4]</sup>。因此本课题旨在探讨 AT1-AA 是否可能参与 As 模型斑块形成及炎症反应,从而进一步阐明其对斑块局部炎症和斑块稳定性的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

AQ-7, 又名 7aa 短肽(氨基酸序列为 AFHYESQ;上海吉尔生化有限公司),可抑制 AT1 受体胞外第二肽段与 AT1-AA 的结合;辛伐他汀片(simvastatin)及氯沙坦钾片(losartan)(杭州默沙东制药有限公司);MMP-2(ab2462,小鼠单抗;Abcam 公司);蛋白 G 亲和柱(Amersham Biosciences 公司);免疫相关试剂盒和实验材料(博士德生物技术有限公司);DAB 显色试剂盒(博士德生物技术有限公司)。

### 1.2 血清 AT1-AA 的检测

收集原发性高血压合并急性冠状动脉综合征

(acute coronary syndrome, ACS)患者的血清,用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)方法检测 AT1-AA 水平。用人工合成的 AT1 胞外第二肽段(165-191aa)包被 96 孔酶联板,每孔 2  $\mu\text{g}$ ,以不同稀释度纯化的 AT1-AA 为一抗,羊抗兔 IgG-辣根过氧化物酶为酶标二抗,四甲基联苯胺/ $\text{H}_2\text{O}_2$  显色,稀  $\text{H}_2\text{SO}_4$  终止反应,于 450 nm 波长处测定吸光度(absorbance, A)值。实验中设立空白对照和阴性对照,测 A 值时以空白对照调零,以(病人血清组 A 值-空白对照 A 值)/(正常人血清组 A 值-空白对照 A 值)超过 2.1 判为抗体检测阳性。

动物血清 AT1-AA 检测:动物模型不同时段分别经兔耳中央动脉采血,3000 r/min 离心得血清,并通过 ELISA 检测 AT1-AA 水平,检测方法同上。

### 1.3 层析柱的制备、AT1-AA 的亲层析纯化及提取

将合成的多肽(AT1R165-191aa)溶于 pH8.4、0.1 mol/L 碳酸盐缓冲液中,然后与活化的 CNBr-Sepharose 4B 按一定比例进行交联,20 $^{\circ}\text{C}$  下放置 4 h 以上,并缓慢搅拌溶液。交联后,用 20 倍体积的上述碳酸盐缓冲液抽吸取未结合的蛋白质,然后再用 5 倍体积的 pH2.8、0.1 mol/L HCl-甘氨酸缓冲液洗去非特异吸附的蛋白。将交联后的 4B 珠用含 0.1 mol/L 赖氨酸的 pH7.4、0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)洗 4B 珠,以封闭未交联的活性基团;再用 10 倍体积的 pH7.5、Tris-HCl 缓冲液抽洗至  $A_{280\text{nm}} < 0.04$ ,于 4 $^{\circ}\text{C}$  保存备用。

AT1-AA 阳性血清和阴性血清分别经硫酸铵反复沉淀、洗涤、离心。将粗提沉淀得到的蛋白以 0.5~1 mL/min 的流速将样品吸附于 4B 珠上,4 $^{\circ}\text{C}$  保持 2~4 h,用 5~10 倍体积的 PBS 以 1 mL/min 的流速洗脱未结合的杂蛋白,直至洗脱液的  $A_{280\text{nm}} < 0.05$  为止;然后用 pH2.4、0.1 mol/L HCl-甘氨酸缓冲液洗脱层析柱中与配基结合的蛋白,流速 1 mL/min,将洗脱的特异性蛋白以 1 mL 收集分装(内含有 pH8.0、1

mol/L Tris-HCL 0.1 mL, 以避免蛋白变性)。BCA 蛋白定量试剂盒测定纯化的 AT1-AA 阳性和阴性的 IgG 浓度。

#### 1.4 动脉粥样硬化模型的建立

由广东省医学实验动物中心提供 SPF (specific pathogen free) 级新西兰兔 30 只, 平均体重 2~2.5 kg, 随机分成 6 组: (1) 对照组; (2) 低浓度 AT1-AA [20  $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ] 注射组 (简称 LA 组); (3) 高浓度 AT1-AA [40  $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ] 注射组 (简称 HA 组); (4) Losartan [20 mg/(kg · d)] 灌胃+高浓度 AT1-AA 注射组 (简称 L+HA 组); (5) Simvastatin [4 mg/(kg · d)] 灌胃+高浓度 AT1-AA 注射组 (简称 S+HA 组); (6) 7aa [1.5 mg/(kg · d)] 灌胃+高浓度 AT1-AA 注射组 (简称 7aa+HA 组)。每组 5 只。以 3% 戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉, 经右股浅动脉, 将 3.5F 球囊扩张导管插至腹主动脉 20 cm, 球囊充液膨胀至 2 个大气压缓慢拉出, 反复 3 次。球囊拉伤手术后, 每组均喂以高脂饲料, 连续 9 周。并于第 6 周末开始给药治疗, 各组动物每天按体重灌胃给予相应药物, 连续灌胃给药 3 周。同时, 按剂量耳缘静脉注射相应药物, 每隔 3 天注射给药 1 次, 共 7 次。其中 AT1-AA 注射组给予免疫亲和纯化的 AT1-AA 阳性的 IgG, 对照组则给予 AT1-AA 阴性的 IgG + PBS, 因人来源的 AT1 受体与兔 AT1 受体具有高度同源, 以尽量避免注射后的异种免疫排斥反应。

#### 1.5 动脉粥样斑块 HE 染色及斑块形态学测量

10 周时实验兔经戊巴比妥钠麻醉, 股动脉放血处死。分离主动脉全段, 4% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 在每一段的近端连续切片, 每段标本切片 8~10 张, 片厚 5  $\mu\text{m}$ 。行常规 HE 染色。取腹主动脉组织, 每只动物各观察 5 个视野, 每组共观察 25 个血管环, 采用 Image-Pro Express C 5.1 图文分析软件测定腹主动脉 As 斑块面积 (plaque area, PA)。斑块面积百分值即为内弹力膜所包围的面积与管腔面积之差除以血管的横截面积, 避免了由于血管大小引起的误差。

#### 1.6 组织蛋白提取及 Western blot 分析 MMP-2 的表达

液氮中取出兔主动脉组织, 称取 100 mg 组织, 置于含 1 mL 匀浆缓冲液 (RIPA 裂解液) 的 10 mL 一次性塑料管中, 于冰浴中 10000 r/min 匀浆 3 次, 每次 10 s, 以裂解蛋白; 将组织匀浆液立即移至 1.5 mL 离心管 (已预先加入 0.1 mL 0.1% 苯甲基磺酰

氟) 中, 以 28% 的超声强度匀浆 3 s, 共 15 个循环, 混匀后低温高速离心机 12000 r/min 离心 10 min, 取其上清液分装。各标本取 2  $\mu\text{L}$  按 Bradford 法测定其蛋白浓度。将样品蛋白加 2 $\times$  上样缓冲液煮沸 10 min 后上样。以 200 V、7.5% 的 SDS-PAGE 分离胶电泳 40 min, 100 V 转膜 90 min 至 2 h。用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后洗膜 3 次, 每次 15 min, 加一抗 4 $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。再洗膜 3 次, 每次 15 min, 二抗室温孵育 1 h。洗膜 3 次, 每次 15 min, ECL 发光检测。

#### 1.7 统计学处理

计量数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 各组间比较采用 ANOVA 分析,  $P < 0.05$  表示有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 各组不同时间段血脂及 AT1-AA 水平

分别检测动物第 0、4、8、10 周血脂水平, 各组动物经高脂饮食喂养后于第 4 周血脂水平较喂养前均明显升高, 其中总胆固醇 (total cholesterol, TC) 及低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 水平与基础水平相比具有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。S+HA 组中, 第 10 周血清 TC ( $2.873 \pm 0.635$  mmol/L) 及 LDLC ( $2.173 \pm 0.382$  mmol/L) 水平较第 4 周时 (分别为  $6.770 \pm 1.252$  mmol/L、 $5.990 \pm 1.063$  mmol/L) 明显下降 ( $P < 0.05$ )。其余各组第 4 周至第 10 周不同时间段血脂水平无明显差异。表明予高脂喂养后动物血清中维持较高的 TC 及 LDLC 水平, 而同时也表明单纯予低浓度和高浓度 AT1-AA 刺激后不同时间段其血脂水平无明显差异 (图 1)。

分别采集动物第 0、8、10 周血清, 用 ELISA 检测 AT1-AA, 结果显示, 除对照组各时间段无明显变化外, 其余各组第 8 周和第 10 周血清 AT1-AA 吸光度值 ( $A_{450\text{nm}}$ ) 均明显高于实验开始 (0 周) 时 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ; 图 2)。表明给动物分多次注射 AT1-AA 给药后, 该抗体血清水平稳定在较高水平。

### 2.2 各组腹主动脉斑块形态学观察及比较

对照组可见轻度内膜增厚及少许脂质沉积斑块, 主动脉层次清晰, 中层平滑肌均匀, 厚度正常; LA 组内膜增厚, 可见脂质斑块, 且内膜下可见中量泡沫细胞堆积; HA 组内膜明显增厚, 伴有平滑肌细胞增生, 并可见内皮下大量脂质和泡沫细胞堆积,

中膜平滑肌细胞排列紊乱,内弹性纤维断裂,排列紊乱,并有炎性细胞浸润,纤维斑块突入管腔引起管壁狭窄,斑块呈偏心性;L+HA 组、S+HA 组、7aa+HA 组较 LA 组、HA 组病变减轻,血管内膜略增厚,少许脂质沉积及散在斑块形成,内皮下仅见少量泡沫细胞和炎性细胞浸润,血管平滑肌细胞增生不明显,动脉结构基本完整,中层内弹力纤维膜连续(图 3)。计算机图像分析对各组斑块占管腔面积百分值进行比较(每组 5 张切片 25 个视野),对照组、L+HA 组、S+HA 组、7aa+HA 组斑块百分值分别为 27.71%±7.46%、34.27%±12.38%、24.03%±8.56%、28.54%±12.50%,LA 组(46.99%±13.06%)、HA 组

(66.11%±19.67%)均明显高于其余各组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。

### 2.3 MMP-2 在不同组间的表达

各组腹主动脉斑块经组织匀浆后提取总蛋白,Western blot 检测组织中 MMP-2 的表达情况,经图像分析系统分析。结果显示,LA 组、HA 组 MMP-2 平均相对灰度值分别为 0.419±0.032、0.535±0.038,明显高于对照组(0.211±0.012)、L+HA 组(0.312±0.058)、S+HA 组(0.289±0.018)、7aa+HA 组(0.268±0.024)(均 $P<0.05$ ;图 4);LA 组、HA 组间无明显差异。提示 AT1-AA 可明显刺激动脉粥样斑块中 MMP-2 的表达。

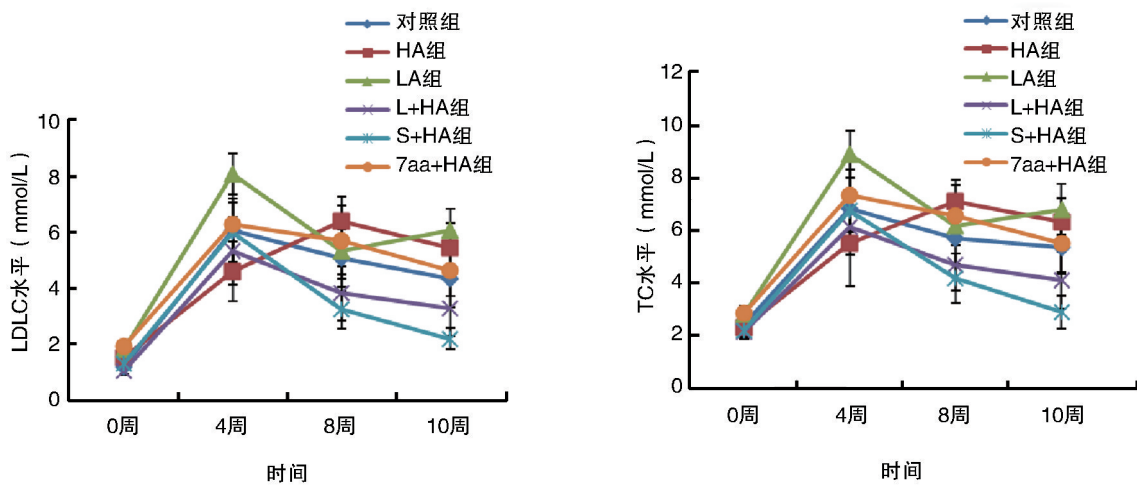


图 1. 不同时间段各组血脂水平比较

Figure 1. Comparison of blood lipid levels among different groups in different time periods

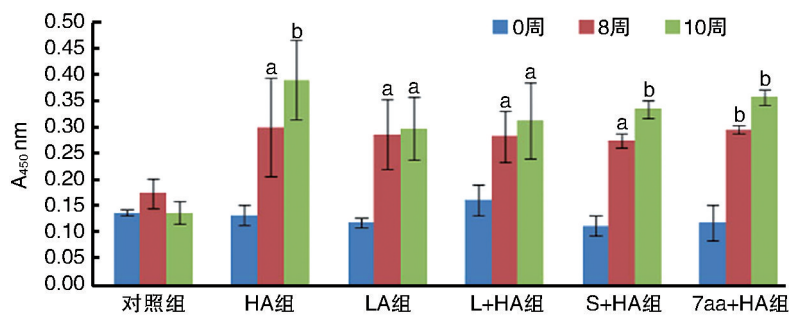


图 2. 不同时间段各组 AT1-AA 水平 a 为 $P<0.05$ ,b 为 $P<0.01$ ,与同组 0 周时比较。

Figure 2. The levels of AT1-AA in each group in different time periods

## 3 讨论

冠状动脉内易损粥样斑块破裂,继发血栓形成是 ACS 的发生机制,炎症反应是导致冠状动脉内结

构性易损斑块向功能性易损斑块进展的重要环节<sup>[14]</sup>。而 MMP 的水解活性与斑块不稳定性密切相关<sup>[9]</sup>,已证实兔颈动脉 As 斑块中 MMP 活性增高的部位确实有巨噬细胞的侵袭和斑块的形成,且以

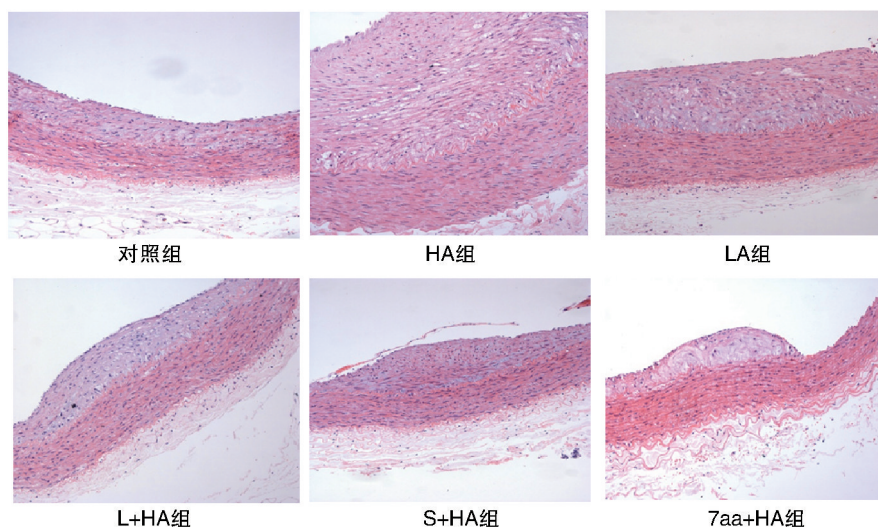


图 3. 各组腹主动脉 As 斑块 HE 染色 (200×)

Figure 3. HE staining of As plaques of abdominal aorta in each group (200×)

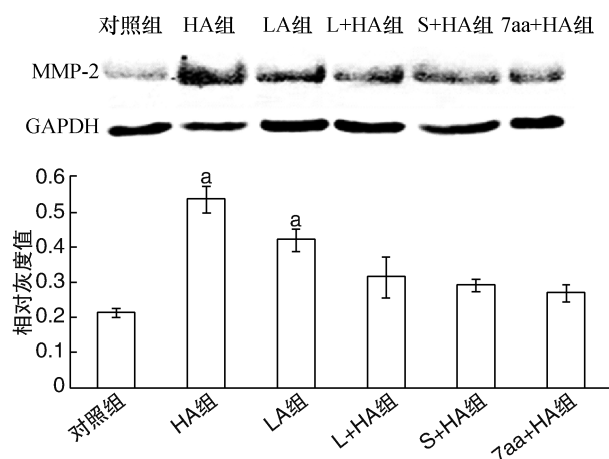


图 4. 各组 MMP-2 的表达情况 (n=5) a 为  $P < 0.05$ , 分别与对照组、L+HA 组、S+HA 组、7aa+HA 组比较。

Figure 4. The expression of MMP-2 in different groups (n=5)

MMP-2 和 MMP-9 为主<sup>[15]</sup>。因此本研究主要探讨 AT1-AA 与兔受损动脉内膜局部斑块炎症反应及 MMP-2 的表达情况。结果提示 AT1-AA 可明显致兔受损动脉内膜局部斑块形成,且该效应可被 AT1 受体拮抗剂氯沙坦及 AT1-AA 特异性拮抗剂 7aa 短肽(特异性抑制 AT1-AA 与 AT1 受体胞外第二肽段结合)所抑制,同时辛伐他汀也可明显改善斑块局部炎症反应及内膜厚度、斑块面积等。斑块局部 MMP-2 的表达在高浓度及低浓度 AT1-AA 组较其他组明显,表明 AT1-AA 参与兔受损动脉内膜 As 斑块形成,同时促进斑块内 MMP-2 的释放,进而可能造成斑块纤维帽的破裂并失去稳定性。

Ang II 致 As 的效应可被 AT1 受体拮抗剂所抑制已报道较多<sup>[16]</sup>, AT1 受体拮抗剂抑制血管炎症、重构及抗 As 的作用已超出单纯对血压的控制<sup>[17]</sup>。本研究亦阐明 AT1-AA 具有促进兔受损动脉内膜斑块形成及斑块内炎症反应的作用,且该效应可以被氯沙坦及特异性 AT1-AA 拮抗剂抑制,表明 AT1-AA 主要作用于 AT1 受体而发挥生物学效应。

炎症反应不仅参与 As 发生,而且在斑块失稳性中起到尤其重要的作用,即可能直接导致或诱发斑块破裂或急性血栓形成。AT1-AA 可以作为一种具有生物活性的致炎因子而存在于原发性高血压患者,在合并有动脉内膜受损及粥样斑块形成的患者中其 AT1-AA 升高可能进一步加重 ACS 患者动脉粥样斑块的破裂,从而加重患者病情。因此在临床中,对高血压合并 ACS 患者进行 AT1-AA 检测,可在一定程度上预测患者冠状动脉斑块局部炎症及疾病的进展,同时指导个体化治疗。

#### [参考文献]

- [1] GK Hansson. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease [J]. N Engl J Med, 2005, 352 (16): 1685-695.
- [2] Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization [J]. Stroke, 2006, 37(7): 1923-932.
- [3] Libby P, Okamoto Y, Rocha VZ, et al. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice [J]. Circ J, 2010, 74(2): 213-220.
- [4] Hansson GK, Hermansson A. The immune system in ather-

- osclerosis[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(3): 204-212.
- [5] Pueyo ME, Conzalez W, Nicoletti A, et al. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecular-1 via nuclear factor-kappa B activation induced by intracellular oxidative stress[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(3): 645-651.
- [6] Nobuhiko A, Suganuma E, Babaev VR, et al. Angiotensin II amplifies macrophage-driven atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(11): 2143-148.
- [7] Pacurari M, Kafoury R, Tchounwou PB, et al. The renin-angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling [J]. *Int J Inflamm*, 2014, 2014(3): 689-360.
- [8] Wang C, Chang Q, Sun X, et al. Angiotensin II induces an increase in matrix metalloproteinase 2 expression in aortic smooth muscle cells of ascending thoracic aortic aneurysms through JNK, ERK1/2, and p38 MAPK activation[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015, 66(3): 285-293.
- [9] Yao M, Wang X, Wang X, et al. The Notch pathway mediates the angiotensin II-induced synthesis of extracellular matrix components in podocytes[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(1): 294-300.
- [10] Newby AC. Metalloproteinases promote plaque rupture and myocardial infarction: A persuasive concept waiting for clinical translation [J]. *Matrix Biol*, 2015, 44-46: 157-166.
- [11] Shah PK. Biomarkers of plaque instability [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2014, 16(12): 547.
- [12] Sun YX, Zhang HY, Wei YM, et al. The mechanism of signal transduction during vascular smooth muscle cell proliferation induced by autoantibodies against angiotensin AT1 receptor from hypertension[J]. *Chin Med J*, 2008, 121(1): 43-48.
- [13] Zhu F, Sun YX, Liao YH, et al. Agonistic AT1 receptor autoantibody increases in serum of patients with refractory hypertension and improves Ca<sup>2+</sup> mobilization in cultured rat vascular smooth muscle cells[J]. *Cell Mol Immunol*, 2008, 5(3): 209-217.
- [14] Hansson GK, Libby P, Tabas I. Inflammation and plaque vulnerability[J]. *J Intern Med*, 2015, 278(5): 483-493.
- [15] Fujimoto S, Hartung D, Ohshima S, et al. Molecular imaging of matrix metalloproteinase in atherosclerotic lesions: Resolution with dietary modification and statin therapy [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(23): 1847-857.
- [16] Ramadan R, Dhawan SS, Binongo JN. Effect of angiotensin II type I receptor blockade with valsartan on carotid artery atherosclerosis: A double blind randomized clinical trial comparing valsartan and placebo (EFFERVESCENT) [J]. *Am Heart J*, 2016, 174: 68-79.
- [17] Bakris G. Are there effects of renin-angiotensin system antagonists beyond blood pressure control? [J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(1 Suppl): 21A-29A.

(此文编辑 曾学清)