

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.01286

· 论 著 ·

## 血管紧张素 II 及其受体在慢性环孢素 A 肾毒性大鼠肾组织中的表达

金英顺, 洪英礼, 崔镇花, 刘雨田, 金海峰, 金 华, 陈 琰, 李 灿\*

延边大学附属医院肾内科, 延吉 133000

**[摘要]** **目的** 观察血管紧张素 II (Ang II) 及其受体在慢性环孢素 A (CsA) 肾毒性中的表达。**方法** Sprague-Dawley 大鼠皮下注射 CsA (15 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>) 4 周, 建立慢性 CsA 肾毒性模型; 正常对照组皮下注射橄榄油。检测各组大鼠的体重、收缩期血压、血 CsA 浓度、血清肌酐、肌酐清除率; 三色染色观察肾小管间质纤维化; 免疫组织化学染色和蛋白质免疫印迹法分别检测 Ang II 及其受体 AT1 和 AT2 的表达。**结果** 慢性 CsA 肾毒性组表现为体重减少、血肌酐上升、肌酐清除率下降、肾小管间质带状纤维化 ( $P < 0.01$ )。与对照组相比, 毒性组大鼠 Ang II 的免疫活性明显增加 ( $47 \pm 7$  vs  $13 \pm 4$ ,  $P < 0.01$ ), 主要分布于入球动脉的肾小球旁器, 与肾小管间质纤维化程度紧密相关 ( $r = 0.769$ ,  $P < 0.001$ )。免疫印迹显示毒性组 Ang II 受体 AT1 的表达明显减少 [ $(114 \pm 14)\%$  vs  $(42 \pm 6)\%$ ,  $P < 0.01$ ], 而 AT2 的表达增加 [ $(129 \pm 23)\%$  vs  $(469 \pm 43)\%$ ,  $P < 0.01$ ]。**结论** 在慢性 CsA 肾毒性中, 肾内肾素血管紧张素被激活, 表现为 Ang II 免疫活性增加, 这种 Ang II 免疫活性与肾小管间质纤维化紧密相关。

**[关键词]** 慢性环孢素 A 肾毒性; 间质性肾炎; 血管紧张素 II; 血管紧张素受体**[中图分类号]** R 692.33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)12-1286-05

### Expression of angiotensin II and its receptors in a rat model of chronic cyclosporine nephrotoxicity

JIN Ying-shun, HONG Ying-li, CUI Zhen-hua, LIU Yu-tian, JIN Hai-feng, JIN Hua, CHEN Ying, LI Can\*

Nephrology and Dialysis Unit, Department of Internal Medicine, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, Jilin, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the expression of angiotensin II (Ang II) and its receptors in a rat model of chronic cyclosporine (CsA) nephrotoxicity. **Methods** Chronic CsA nephrotoxicity was induced in Sprague-Dawley rats by administering CsA (15 mg/kg s. c.) for 4 weeks. The body weight, systolic blood pressure, serum CsA, serum creatinine (Cr), and creatinine clearance rate (Ccr) of rats were examined in each group. Trichrome staining was used to observe the tubulointerstitial fibrosis; expressions of Ang II and its receptors (AT1 and AT2) were examined by immunohistochemical staining and Western blotting analysis. **Results** Compared with the control rats, CsA-treated rats showed decreased body weight, increased Cr, decreased Ccr and tubulointerstitial fibrosis ( $P < 0.01$ ). Immunohistochemistry revealed that the immunoreactivity of Ang II was significantly increased in the CsA-treated rats ( $47 \pm 7$  vs  $13 \pm 4$ ,  $P < 0.01$ ), with the immunoreactivity mainly locating to the juxtaglomerular afferent arterioles, and the immunoreactivity was significantly correlated with tubulointerstitial fibrosis ( $r = 0.769$ ,  $P < 0.001$ ). Western blotting analysis showed significantly decreased AT1 expression [ $(114 \pm 14)\%$  vs  $(42 \pm 6)\%$ ,  $P < 0.01$ ] and increased AT2 expression [ $(129 \pm 23)\%$  vs  $(469 \pm 43)\%$ ,  $P < 0.01$ ]. **Conclusion** The findings of our study suggest that the intrarenal renin-angiotensin system is activated during chronic CsA nephrotoxicity, which is manifested by increased Ang II immunoreactivity, and this increased immunoreactivity is closely related to tubulointerstitial fibrosis.

**[Key words]** chronic cyclosporine nephrotoxicity; interstitial nephritis; angiotensin II; angiotensin receptors

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(12):1286-1290]

慢性环孢素(CsA)肾毒性以进行性肾功能低下、肾小管间质炎症以及带状纤维化为特征,其分子发病机制与肾素-血管紧张素系统(RAS)<sup>[1]</sup>、炎性介质<sup>[2]</sup>、转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)<sup>[3]</sup>、细胞凋亡<sup>[4]</sup>等有关。其

中,RAS扮演着重要的角色,因为RAS直接上调TGF- $\beta$ 1的表达、介导肾小管间质炎症反应、引起肾实质细胞的凋亡,从而导致肾小管间质纤维化。

在肾脏的生理和病理过程中,血管紧张素 II

**[收稿日期]** 2010-05-20 **[接受日期]** 2010-11-17**[作者简介]** 金英顺, 硕士, 副主任医师. E-mail: jys0617@yahoo. cn

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0433-2660799, E-mail: canlimd@yahoo. com

(angiotensin II, Ang II) 被认为是 RAS 中最具有生物学活性的执行者, Ang II 发挥生物学活性是通过其特异性的受体来完成。最近研究表明, Ang II 和受体(AT1 和 AT2)在糖尿病肾病<sup>[5]</sup>、肾切除肾衰模型<sup>[6]</sup>中有不同的表达。然而,关于 Ang II 及其受体在慢性 CsA 肾毒性中表达的报道甚少。本研究以慢性 CsA 肾毒性大鼠为动物模型,观察 Ang II 及其受体在肾内的表达。

## 1 材料和方法

1.1 材料 CsA (Novartis Pharma, Basel, Switzerland); 橄榄油 (Sigma); 低盐饲料(0.05% 钠盐, Teklad Premier, Madison, WI, USA)、抗体 (Ang II、AT1、AT2, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) 由 Dr. YANG Chul-Woo (The Catholic University of Korea) 惠赠。

1.2 动物分组 雄性 Sprague-Dawley 大鼠 14 只, 8 周龄, 体质量 200~220 g。喂饲低盐饲料下, 随机分为两组: (1) 毒性组 ( $n=8$ ): 皮下注射  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  CsA (Novartis Pharma, Basel, Switzerland); (2) 对照组 ( $n=6$ ): 皮下注射等剂量橄榄油 (Sigma)。两组大鼠均给药 4 周后处死, 留取肾组织标本。

1.3 基本检查 监测各组大鼠的体重变化; 收缩期血压 (SBP) 用尾动脉测定法 (Tail-cuff, BP2000, Visitech system, Apex, NC, USA) 检测, 每只大鼠测定 3 次取平均值。全血 CsA 浓度由单克隆放射免疫法测定 (monoclonal radioimmunoassay, Inestar, Stillwater, MN, USA)。

1.4 肾功能测定 处死大鼠前将大鼠放入代谢笼中, 收集 24 h 尿, Jaffe 比色法测定 24 h 尿肌酐。处死大鼠时采血, 用 7150 全自动生化分析仪测定血清肌酐。用以下公式计算肌酐清除率:  $(24 \text{ h 尿量} \times \text{尿肌酐} / \text{血清肌酐}) / 100 \text{ g 体质量}$ 。

1.5 肾脏病理检查 肾组织由过碘酸-赖氨酸-多聚甲醛液 (periodate-lysine-paraformaldehyde) 固定, 石蜡 (Wax) 包埋后切片 (厚  $4 \mu\text{m}$ )。脱蜡后行三色 (Masson Trichrome) 染色, 观察肾小管间质纤维化。采用我们以往方法<sup>[7]</sup>评估肾小管间质纤维化程度, 利用数字化显微镜分析仪 (TDI Scope Eye™ Version 3.0 for Windows, Olympus, Japan), 每张切片上至少观察 20 个不同区域。在 100 倍显微镜下, 获取图像, 利用 Polygon Program 定量地计算肾皮质受损部位的百分数。由两个观察者对每个样本随机进行盲法评分。

1.6 免疫组织化学染色检测 Ang II 的表达 石蜡

包埋切片置二甲苯脱蜡和梯度乙醇中脱水, 室温下 ( $37^\circ\text{C}$ ) 0.3% 过氧化氢/甲醛处理 30 min 后, PBS 液洗 3 次。置微波炉中加热修复抗原 ( $98^\circ\text{C}$ , 5 min), PBS 液洗 3 次。滴加非免疫性血清封闭液室温下封闭 20 min。PBS 液洗 3 次, 在  $4^\circ\text{C}$  下滴加一抗孵育 12~16 h。PBS 液洗 3 次后滴加二抗, 室温孵育 2 h。以 DAB 为底物显色, 呈棕黄色为止。自来水流水洗涤, 苏木精复染, 常规树脂封片。在 200 倍显微镜下, 利用数字化显微镜分析仪计数, 每张切片至少观察非重叠区域的 50 个肾小球, 取平均值, 半定量评估 Ang II 阳性肾小球<sup>[7]</sup>。

1.7 蛋白质免疫印迹分析 AT1、AT2 的表达 将肾组织用蛋白质溶解缓冲液 (10 mmol/L Tris-Cl, pH 7.6; 150 mmol/L NaCl; 1% sodium deoxycholate; 1% Triton X 100; 0.1% sodium dodecyl sulfate; 1% aprotinin; 2 mmol/L  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ; 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  leupeptin; 1 mmol/L PMSF) 制成匀浆;  $4^\circ\text{C}$  下离心 ( $400 \times g$ ) 后, 取上清液测定蛋白浓度 (Bio-Rad, Hercules); 取 20  $\mu\text{g}$  标本进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE); 电转膜 (90 V) 2 h 后,  $4^\circ\text{C}$  下置 AT1、AT2 抗体于非脂牛乳中以 1:1 000 浓度孵育 12~16 h; 室温下缓冲液洗 3 次, 加辣根过氧化物酶标记的驴抗兔 IgG (Amersham) 1 h; 室温下缓冲液洗 3 次, 增强发光 (ECL™, Amersham) 和曝光。以对照组为标准 (100%) 测定条带的光密度, 以  $\beta$ -actin 校正。

1.8 统计学处理 计量资料数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间均数比较采用成组  $t$  检验。采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析。运用直线相关分析 (Pearson single-correlation coefficient) 考察肾小管间质纤维化程度与 Ang II 的相关关系。

## 2 结果

2.1 慢性 CsA 肾毒性的建立 给药 4 周后, 毒性组大鼠与对照组相比, 发生如下改变: (1) 体质量下降 [ $(295 \pm 4) \text{ g}$  vs  $(240 \pm 6) \text{ g}$ ,  $P < 0.01$ ]; (2) 血 CsA 浓度升高 [ $(2360 \pm 94) \text{ ng/ml}$  vs  $(0 \pm 0) \text{ ng/ml}$ ,  $P < 0.01$ ]; (3) 肾功能恶化, 表现为血清肌酐的上升和肌酐清除率的下降 (表 1); (4) 发生广泛的肾小管间质带状纤维化 (图 1)。以上结果表明成功建立了慢性 CsA 肾毒性的动物模型。

2.2 肾内 Ang II 的表达 在对照组中, 可以观察到 Ang II 阳性肾小球 ( $13 \pm 4$ ); 与对照组相比, 毒性组 Ang II 免疫活性明显增加 ( $47 \pm 7$ ,  $P < 0.01$ ), 见图 2。直线相关分析表明, Ang II 和肾小管间质纤维化程度有较强的正相关关系 ( $r = 0.769$ ,  $P < 0.001$ ), 见图 3。

表 1 各组大鼠体质量、收缩期血压、CsA 浓度、肾功能检测结果

Tab 1 Body mass, SBP, CsA concentration, and renal function of rats in 2 groups

Group	n	Body mass m/g	SBP p/mmHg	CsA concentration $\rho_B/(ng \cdot ml^{-1})$	( $\bar{x} \pm s$ )	
					SCr $c_B/(\mu mol \cdot L^{-1})$	CCr [ $ml \cdot min^{-1} \cdot (100 g)^{-1}$ ]
Control	6	295 ± 4	121 ± 5	0 ± 0	60.1 ± 2.0	0.57 ± 0.03
CsA-treated	8	240 ± 6**	129 ± 9	2 360 ± 94**	110.5 ± 10.5**	0.16 ± 0.06**

SBP: Systolic blood pressure. 1 mmHg=0.133 kPa; \*\* P<0.01 vs control group

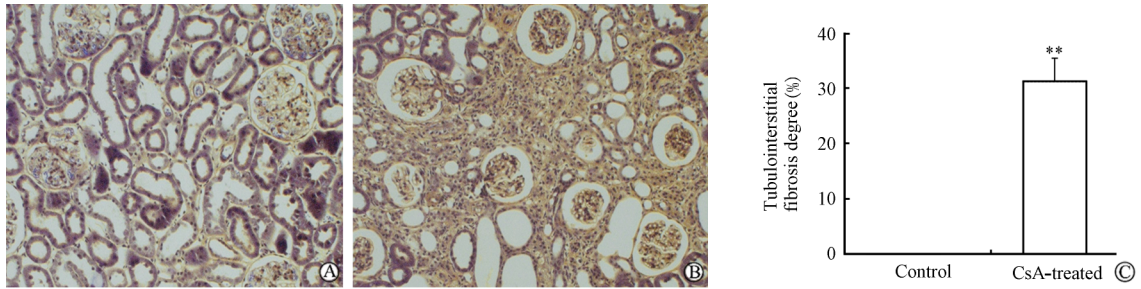


图 1 肾组织病理改变

Fig 1 Pathological changes of renal tissues

A: Control group; B: CsA-treated group (Masson Trichrome staining, original magnification: ×100); C: Tubulointerstitial fibrosis degree. \*\* P<0.01 vs control group. n=6 in control group, n=8 in CsA-treated group,  $\bar{x} \pm s$

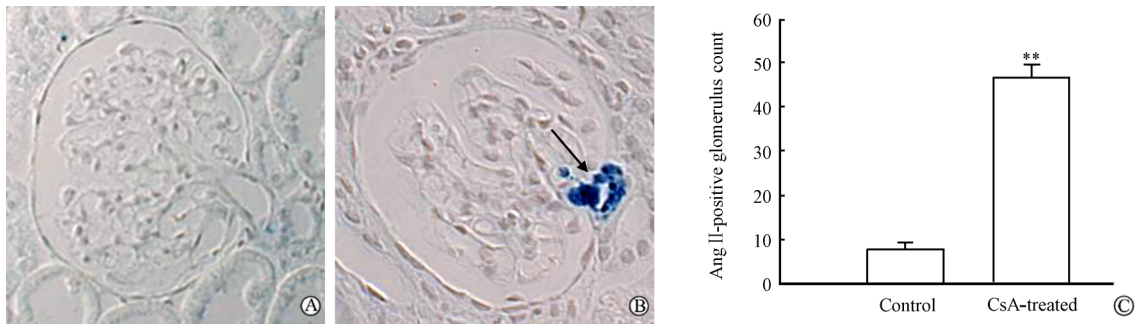


图 2 免疫组织化学染色检测 Ang II 的表达

Fig 2 Ang II expression showed by immunohistochemical staining

A: Control group, the glomeruli are normal; B: CsA-treated group, the arrow indicates Ang II immunocompetence of glomerularis afferens is enhanced(original magnification: ×400); C: Count of Ang II positive glomeruli. \*\* P<0.01 vs control group. n=6 in control group, n=8 in CsA-treated group,  $\bar{x} \pm s$

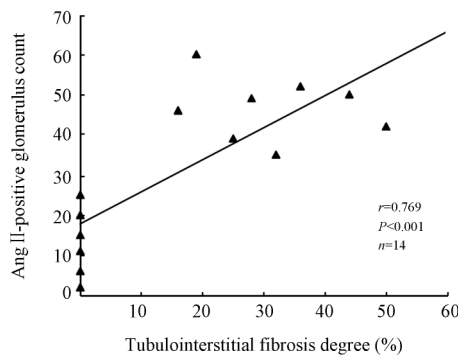


图 3 直线相关分析 Ang II 阳性细胞计数与肾小管间质纤维化程度的关系

Fig 3 Correlation analysis of Ang II positive glomerulus count with tubulointerstitial fibrosis degree

2.3 肾内 AT1 和 AT2 的表达 免疫印迹结果显示,与对照组相比,毒性组 AT1 蛋白的表达明显减少 [(114 ± 14)% vs (42 ± 6)% , P<0.01],而 AT2 蛋白的表达增加 4 倍之多 [(129 ± 23)% vs (469 ± 43)% , P<0.01],见图 4。

### 3 讨论

随着分子生物学实验技术的发展,学者们发现除循环中的 RAS 外,在许多组织包括肾组织中发现有局部肾素、Ang II、血管紧张素转化酶、Ang II 受体(AT1 和 AT2) 基因的表达,提示肾内 RAS(intra-renal renin-angiotensin system)在肾脏病理生理过程中的重要作用。肾内 RAS 家族成员之一的 Ang

II 可通过自分泌、旁分泌或胞内分泌等方式发挥作用。本实验利用慢性 CsA 肾毒性大鼠模型, 探讨 Ang II 及其受体 (AT1 和 AT2) 在肾内的表达。结果表明, Ang II 的免疫活性显著增加, 且与肾小管间

质纤维化紧密相关, 同时伴随受体 AT1 和 AT2 的逆相表达。以上结果证实肾内 RAS 过度激活参与了慢性 CsA 肾毒性的发病。

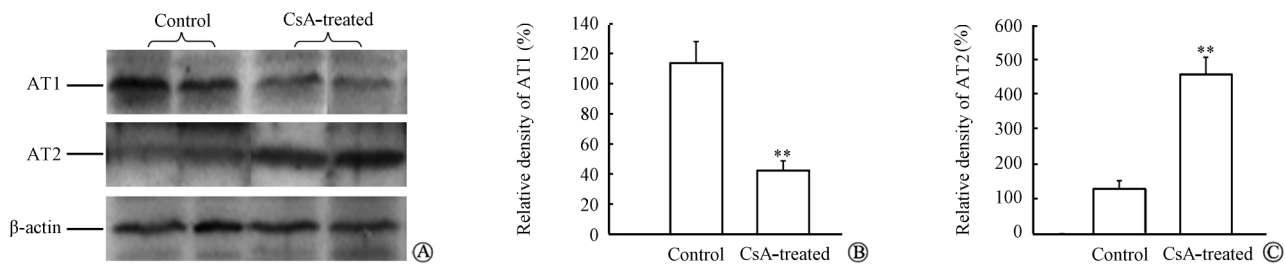


图 4 蛋白质免疫印迹法检测 AT1 和 AT2 的表达

Fig 4 AT1 and AT2 expression determined by Western blotting analysis

A: Western blotting images; B: Relative density of AT1; C: Relative density of AT2. \* \*  $P < 0.01$  vs control group.  $n = 6$  in control group,  $n = 8$  in CsA-treated group,  $\bar{x} \pm s$

肾内被激活的 Ang II 直接或间接地参与了各种肾脏病的发生发展。在链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠模型中, 放射免疫结果显示糖尿病大鼠的外周血浆和肾内的 Ang II 水平分别上升 2.6 倍和 1.8 倍<sup>[8]</sup>。我们曾经报道, 长期使用 CsA 可激活肾内 Ang II, 激活的肾内 Ang II 可通过上调炎症介质引起肾小管间质炎症、上调致纤因子 TGF- $\beta$ 1 及其诱导基因 h3 ( $\beta$ ig-h3) 的表达导致肾小管间质损伤<sup>[9-12]</sup>。本实验采用免疫组化方法检测 Ang II, 结果显示毒性组肾内 Ang II 的免疫活性较正常组增加 3.6 倍, 主要分布于入球动脉的肾小球旁器。直线相关分析表明, Ang II 和肾小管间质纤维化正相关。有趣的是, 正常组大鼠肾组织也可以观察到 Ang II 阳性肾小球 ( $13 \pm 4$ )。导致这种现象的理由尚不清楚, 可能与使用低盐饲料有关, 因为慢性 CsA 肾毒性大鼠模型只有在喂食低盐饲料下才能建立, 而低盐饲料被证实可激活 RAS。

众所周知 Ang II 发挥生物学效应是通过靶器官细胞膜上的特异性受体 AT1 产生。研究证实肾小管细胞、系膜细胞、足细胞、肾血管平滑肌细胞等均有 AT1 的表达, 而在不同疾病中其表达是千差万别的。Wehbi 等<sup>[5]</sup>和 Xu 等<sup>[13]</sup>报道糖尿病肾病或高糖状态下系膜细胞的 AT1 mRNA 和蛋白的表达增加。与之相反, Sui 等<sup>[6]</sup>最近报道 AT1 在肾切除肾衰模型中表达减少, 血管紧张素转换酶抑制剂赖诺普利可使其表达回升。为了观察 AT1 在慢性 CsA 肾毒性中的表达, 本实验利用免疫印迹法检测 AT1 蛋白, 发现毒性组 AT1 蛋白的表达较正常组减少将近 50%。为什么 AT1 有相反的表达原因还不太清

楚, 可能与以下因素有关: (1) 模型的差异: 糖尿病肾病和慢性 CsA 肾毒性有着不同的发病机制; (2) 病理特点: 因为糖尿病肾病主要以肾小球病变为主, 而慢性 CsA 肾毒性则以肾小管间质损伤为主。由此我们推测, 在以肾小管间质损伤为主的肾脏疾病中, 激活的 Ang II 消耗了肾内的 AT1, 导致它表达下调。

除 AT1 外, AT2 也是 Ang II 发挥生物学效应的重要特异性受体, 但是 AT2 在肾脏生理病理过程中扮演什么角色还不清楚。已知 AT2 通过抵消 (counterbalance) AT1 的作用影响细胞分化、血管扩张、抑制细胞增殖和肥大、促进一氧化氮产生和调节尿钠排泄<sup>[14]</sup>。胎儿发育期 AT2 高表达以促进细胞分化, 随着年龄的增加其表达逐渐下降, 不过在某些疾病状态下机体再次表达 (re-expression) AT2, 提示它具有修复作用 (healing)<sup>[15-16]</sup>。大量研究表明, AT1 在肾小管间质的小动脉、近曲小管、集合管、间质细胞、弓形动脉、入球动脉、外髓降支直小血管等部位表达。盐缺乏 (sodium depletion) 使 AT2 表达上调或被胰岛素样生长因子 1 激活<sup>[17-18]</sup>, 而糖尿病状态下其表达下调或被 Ang II 和各种生长因子如血小板源性生长因子、表皮生长因子所抑制<sup>[5, 19-20]</sup>。激活 AT2 导致磷酸酪氨酸磷酸酶的活性增加和 MAP 激酶的抑制包括 ERK1/2, 而这种信号活性恰恰与 AT1 所致的 ERK1/2 磷酸化相反。Saito 等<sup>[21]</sup>报道增加的 AT1 活性下调 AT2 的表达。因此, AT1 和 AT2 具有相反的表达, 正如在本实验所观察到的结果一样。增加的 AT2 可能是损伤的应激防御反应, 参与了慢性 CsA 肾毒性的修复。

综上所述,长期使用 CsA 激活肾内 Ang II, Ang II 通过其特异型受体参与了慢性 CsA 肾毒性肾小管间质损伤。本研究为临床使用血管紧张素转换酶抑制剂和 Ang II 受体拮抗剂从而减少或预防慢性 CsA 肾毒性提供了分子理论依据。

[参考文献]

[1] Yang C W, Ahn H J, Kim W Y, Shin M J, Kim S K, Park J H, et al. Influence of the renin-angiotensin system on epidermal growth factor expression in normal and cyclosporine-treated rat kidney[J]. *Kidney Int*, 2001, 60: 847-857.

[2] Li C, Yang C W, Park J H, Lim S W, Sun B K, Jung J Y, et al. Pravastatin treatment attenuates interstitial inflammation and fibrosis in a rat model of chronic cyclosporine-induced nephropathy[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286: F46-F57.

[3] Shihab F S, Andoh T F, Tanner A M, Noble N A, Border W A, Franceschini N, et al. Role of transforming growth factor-beta 1 in experimental chronic cyclosporine nephropathy[J]. *Kidney Int*, 1996, 49: 1141-1151.

[4] Shihab F S, Andoh T F, Tanner A M, Yi H, Bennett W M. Expression of apoptosis regulatory genes in chronic cyclosporine nephrotoxicity favors apoptosis[J]. *Kidney Int*, 1999, 56: 2147-2159.

[5] Wehbi G J, Zimpelmann J, Carey R M, Levine D Z, Burns K D. Early streptozotocin-diabetes mellitus downregulates rat kidney AT2 receptors[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, 280: F254-F265.

[6] Sui Y, Zhao H L, Fan R R, Guan J, He L, Lee H M, et al. Renin-angiotensin system activation in renal adipogenesis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 298: F391-F400.

[7] Li C, Sun B K, Lim S W, Song J C, Kang S W, Kim Y S, et al. Combined effects of losartan and pravastatin on interstitial inflammation and fibrosis in chronic cyclosporine-induced nephropathy[J]. *Transplantation*, 2005, 79: 1522-1529.

[8] Shao Y, He M, Zhou L, Yao T, Huang Y, Lu L M. Chronic angiotensin (1-7) injection accelerates STZ-induced diabetic renal injury[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29: 829-837.

[9] 金英顺, 金秀男, 金 华, 崔镇花, 陈 瑛, 李 灿. 洛沙坦对环孢素 A 慢性肾毒性大鼠核因子  $\kappa$ B 的影响[J]. *中华肾脏病杂志*, 2007, 23: 87-90.

[10] 李 灿, 陈 瑛, 洪明玉. 药物中断对慢性环孢素 A 肾毒性可逆性的机制研究[J]. *中华肾脏病杂志*, 2003, 19: 315-319.

[11] Li C, Lim S W, Choi B S, Lee S H, Cha J H, Kim I S, et al. In-

hibitory effect of pravastatin on transforming growth factor beta1-inducible gene h3 expression in a rat model of chronic cyclosporine nephropathy[J]. *Am J Nephrol*, 2005, 25: 611-620.

[12] Sun B K, Li C, Lim S W, Choi B S, Lee S H, Kim I S, et al. Blockade of angiotensin II with losartan attenuates transforming growth factor-beta1 inducible gene-h3 (betaig-h3) expression in a model of chronic cyclosporine nephrotoxicity[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2005, 99: e9-e16.

[13] Xu Z G, Miao L N, Cui Y C, Jia Y, Yuan H, Wu M. Angiotensin II type 1 receptor expression is increased via 12-lipoxygenase in high glucose-stimulated glomerular cells and type 2 diabetic glomeruli[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24: 1744-1752.

[14] Siragy H M. The angiotensin II type 2 receptor and the kidney[J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2010, 11: 33-36.

[15] Nakajima M, Hutchinson H G, Fujinaga M, Hayashida W, Morishita R, Zhang L, et al. The angiotensin II type 2 (AT2) receptor antagonizes the growth effects of the AT1 receptor: gain-of-function study using gene transfer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 10663-10667.

[16] Hutchinson H G, Hein L, Fujinaga M, Pratt R E. Modulation of vascular development and injury by angiotensin II [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 41: 689-700.

[17] Wang Z Q, Moore A F, Ozono R, Siragy H M, Carey R M. Expression of the subtype-2 angiotensin II (AT2) receptor protein in the rat kidney[J]. *Hypertension*, 1997, 30: 1238-1246.

[18] Kambayashi Y, Nagata K, Ichiki T, Inagami T. Insulin and insulin-like growth factor-induced expression of angiotensin type 2 receptor in vascular smooth muscle cells[J]. *Eur J Biochem*, 1996, 239: 558-565.

[19] Ichiki T, Kambayashi Y, Inagami T. Multiple growth factors modulate messenger RNA expression of angiotensin II . type-2 receptor in R3T3 cells[J]. *Circ Res*, 1995, 77: 1070-1076.

[20] Bonnet F, Candido R, Carey R M, Casley D, Russo L M, Osicka T M, et al. Renal expression of angiotensin receptors in long-term diabetes and the effects of angiotensin type 1 receptor blockade[J]. *J Hypertens*, 2002, 20: 1615-1624.

[21] Saito M, Shinohara Y, Sasaki H, Netsu Y, Yoshida M, Nakahata N. Type 1 angiotensin receptor (AT1-R)-mediated decrease in type 2 angiotensin receptor mRNA level is dependent on Gq and extracellular signal-regulated kinase 1/2 in AT1-R-transfected PC12 cells[J]. *J Neuroendocrinol*, 2008, 20: 299-308.

[本文编辑] 孙 岩