

Klotho 与心血管疾病的 关系及其生物学机制

毛琦, 王玉清, 李佑美, 赵晓辉

(中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院心内科, 重庆市 400037)

[关键词] Klotho; 心血管疾病; 衰老; 氧化应激; 心肌重塑

[摘要] Klotho 是重要的内源性多效蛋白, 参与衰老和钙磷代谢等病理生理过程, 与心血管疾病密切相关。近期的临床研究发现低水平的 Klotho 与更多的心血管危险因素关联, 并能预测心血管疾病的发病风险和不良预后; 基础研究也表明 Klotho 在维持血管稳态和正常心功能中发挥了至关重要的作用。Klotho 可以促进一氧化氮(NO)的生成, 抑制炎症因子和黏附分子的表达, 介导抗氧化、抗凋亡、抗衰老的生物学效应, 延缓动脉粥样硬化及血管钙化, 并抑制心肌肥厚和纤维化。Klotho 或可作为一个新的干预靶点, 为心血管疾病的防治提供新的思路。文章就 Klotho 与心血管疾病的 关系及其潜在的生物学机制做一综述。

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

Association of Klotho with cardiovascular diseases and its biological mechanisms

MAO Qi, WANG Yuqing, LI Youmei, ZHAO Xiaohui

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University, PLA, Chongqing 400037, China)

[KEY WORDS] Klotho; cardiovascular diseases; senescence; oxidative stress; myocardial remodeling

[ABSTRACT] Klotho is an important endogenous pluripotent protein involved in pathophysiological processes such as aging and calcium/phosphorus metabolism, which is closely correlated with cardiovascular diseases. Recent clinical studies have found that low levels of Klotho expression are associated with more cardiovascular risk factors and predict cardiovascular risk; Basic studies have also shown that Klotho plays a pivotal role in maintaining vascular homeostasis and heart function. Klotho can promote nitric oxide (NO) production, reduce the expression of inflammatory factors and adhesion molecules, mediate the biological effects of anti-oxidation, anti-apoptosis, and anti-aging, alleviate atherosclerosis and vascular calcification, and inhibit cardiac hypertrophy and fibrosis. Klotho may serve as a new interventional target and provide new insights for the prevention and treatment of cardiovascular diseases. This review aims to summarize the association of Klotho with cardiovascular diseases and its underlying biological mechanisms.

日益增多的心血管疾病严重危害人民的生命健康,是导致当前死亡的最主要原因之一^[1-2]。基于既往的大量研究证据,诸如老龄化、不良生活方式、肥胖、炎症、代谢紊乱等众多心血管危险因素均已被明确阐释^[3]。然而,人们对于心血管疾病的复杂致病机制及预后转归仍未完全清楚。目前,即便通过药物治疗和器械干预实现了优化管理的心血管患者,仍然存在着大量未知的心血管风险并严重影响其临床预后^[4-5]。因此,有必要深化对致病机制的认识从而更新治疗策略,这有利于心血管疾病的防治。

Klotho 基因于 1999 年被日本学者 Kuro 首次鉴定出来,其名称来自于古希腊神话中执掌命运的纺锤女神;Klotho 基因的编码蛋白涉及多种生物学机制,主要与钙磷代谢和个体衰老相关^[6]。既往基础研究证实,敲除 Klotho 基因的小鼠呈现出包括体质弱小、骨质疏松、血管钙化、动脉粥样硬化、肺气肿、皮肤萎缩、毛发稀少等一系列特征的早衰表型,而过表达 Klotho 基因则可减轻组织衰老并延长小鼠寿命^[7]。广泛的临床证据也显示,在慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)患者中,循环 Klotho 水平显著降低,且普遍合并心血管疾病;即使是在

[收稿日期] 2019-10-10

[修回日期] 2020-01-16

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81670428)

[作者简介] 毛琦, 硕士, 主治医师, 研究方向为血管生物学及冠心病防治, E-mail 为 holygeneral1214@163.com。通信作者赵晓辉, 博士, 副主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病防治及介入治疗, E-mail 为 doctorzhaoxiaohui@yahoo.com。

正常人群中,老年人的循环 Klotho 水平较相对年轻人仍然下降明显^[8]。Klotho 最早被证实作为成纤维细胞生长因子 23 (fibroblast growth factor 23, FGF-23) 的共同受体而参与调节钙磷代谢^[9]。近期的研究也发现, Klotho 广泛涉及心血管疾病的病理生理过程, 这些机制包括了氧化应激、细胞凋亡、炎症释放、成骨转化及组织衰老^[10-11]。因此, Klotho 可能作为心血管疾病的一种重要调控因素并参与心血管重塑。本文旨在综述 Klotho 与心血管疾病关系及其维持心血管稳态的生物学机制。

1 Klotho 的结构特征及表达

Klotho 的全基因定位于 13 号染色体长臂, 基因长度约 50 kb, 大致由 5 个外显子和 4 个内含子组成^[6]。Klotho 基因通过转录调控和翻译修饰表达 3 种不同形式的蛋白; 第一种为编码基因全长的膜受体型 Klotho, 是一个包括 1 012 个氨基酸的单跨膜蛋白, 相对分子质量约为 135 kDa; 第二种为前者的可变剪切, 编码 N 端的 549 个氨基酸 (65 ~ 70 kDa), 作为一种分泌型 Klotho 被释放到细胞外; 第三种为可溶性 Klotho, 通过蛋白酶切作用切割受体型 Klotho 的胞外部分而产生, 从胞膜脱落下来的蛋白入血即成为循环型 Klotho^[9]。

膜受体型 Klotho 蛋白包含由两个重复氨基酸序列 (KL1 和 KL2) 组成的胞外结构域、两个短跨膜区 (21 个氨基酸) 和一个胞内结构域 (11 个氨基酸); KL1 和 KL2 含有 20% ~ 40% 的共同氨基酸序列, 并与糖苷酶具有同源性^[6]。膜受体型 Klotho 主要表达于肾脏的近曲小管上皮; 另外, 在大脑、睾丸、垂体、甲状旁腺、泌尿系统和结肠也有少量表达; 循环 Klotho 水平则受年龄和肾功能的影响较大^[12]。组织表达的膜受体型 Klotho 是 FGF-23 发挥其生物学效应的潜在靶点, FGF-23 是一种调节磷酸盐平衡的重要骨源性激素, 在体内通过与 Klotho 及 FGF-23 受体形成高亲和力的复合型受体, 从而促进磷酸盐在肾脏的排泄并维持内环境钙磷的平衡。循环型 Klotho 则作为一种激素样的细胞因子, 主要发挥抗氧化、抗凋亡、抗衰老、调控离子通道等生物学作用^[13]。

2 Klotho 与心血管疾病的关系

循环 Klotho 水平与肾功能密切相关, CKD 进展和肾小球滤过率损害可导致血清 Klotho 浓度的降

低; 因此, Klotho 也可以作为反映肾功能恶化的一种生物标志物, 且与 CKD 相关的血管并发症密切相关^[10]。然而, Klotho 与心血管疾病的关系目前尚不十分明确, 仍然缺乏基于人群研究的足够证据, 尚需进一步的探索。在早先的研究中, Semba 等^[14]发现一般社区人群高水平的循环 Klotho 与更低的心血管疾病发病风险独立相关。Matinez 等^[15]发现冠状动脉病变患者的循环 Klotho 水平和动脉血管壁的 Klotho 表达均较正常对照组明显降低。Navarro 等^[16]的研究则进一步显示, 循环 Klotho 水平与冠状动脉粥样硬化病变严重程度呈负相关, 低水平 Klotho 可能是评估冠状动脉病变风险的独立危险因素。另外, Kitagawa 等^[17]也发现血清 Klotho 是 CKD 患者血管僵硬的独立预测因子。然而也有不一样的观点, 近期的 Ludwigshafen 试验^[18]表明, Klotho 与 CKD 患者的心血管结局风险相关, 但对肾功能正常人群的心血管事件风险则没有独立的预测作用。Seiler 等^[19]的研究结果则显示, 血清 Klotho 水平与心血管结局在 2 ~ 4 期的 CKD 队列人群中并没有显著相关性。综上所述, 循环 Klotho 与血管病变之间存在明显的关联, 但与心血管结局的关系尚无定论。低水平 Klotho 可能增加心血管疾病的风险, 而高水平的 Klotho 则可能对心血管系统具有保护性作用。由于目前缺乏足够的研究证据, 仍然需要后续的临床和基础研究来进一步阐明 Klotho 与心血管疾病的关系。

3 Klotho 血管保护的生物学机制

3.1 内皮稳态和功能障碍

维持内皮稳态是 Klotho 心血管保护作用的一个重要机制^[20]。相关研究显示, 杂合子 Klotho 小鼠的主动脉和小动脉血管舒张能力较野生型小鼠明显减弱, 并且这些杂合子小鼠尿液排泄的 NO_2^- 和 NO_3^- 均明显减少; 这表明小鼠体内 NO 的合成能力显著降低^[21]。研究还发现, 动脉粥样硬化肥胖大鼠的 NO 合成能力明显降低, 而通过腺相关病毒向该动物模型体内过表达 Klotho 则可以显著改善主动脉的舒张功能和 NO 的合成^[22]。这些发现均表明, Klotho 可以通过 NO 的相关通路直接改善血管内皮功能障碍。

缺乏 Klotho 可激活内皮氧化应激, 介导内皮细胞衰老, 从而加速内皮退化。Klotho 可通过活化 FOXO 转录因子, 上调胞内抗氧化蛋白 Mn-SOD 和

CAT 的表达,下调氧化应激水平,进而延缓衰老进程^[23]。这些发现在心血管体外实验上也得到了验证;在人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)中,Klotho 可通过 PKA-cAMP 通路增加超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和 NO 的生成,从而对抗过氧化氢介导的内皮衰老和凋亡^[24]。在血管平滑肌细胞中,过表达 Klotho 可以明显降低胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的水平,从而延缓血管紧张素 II 介导的细胞衰老^[25]。另外,Klotho 可直接调节内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的表达水平;近期的研究也发现 Klotho 可介导 HUVEC 中 eNOS 的磷酸化和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达,进而增加 NO 的合成^[26]。值得注意的是,有证据显示,Klotho 可调控血管平滑肌细胞的活性氧生成,这表明活性氧信号通路与 NO 信号通路之间可能存在复杂的相互作用,但其具体机制尚不明确^[27]。

3.2 炎症和衰老

动脉粥样硬化本质上是一种脂质参与的慢性炎症性血管疾病。既往证据表明,Klotho 可通过介导抗炎效应发挥心血管保护作用^[10]。在体外实验中,Klotho 可下调肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 介导的 HUVEC 中细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) 和血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1) 的表达,而敲除 Klotho 则可引起黏附分子表达的显著增加^[28]。Klotho 还可阻断 TNF- α 诱导的单核细胞黏附,并可抑制经典核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 炎症通路的激活,从而拮抗炎症反应的启动和扩大^[28]。另外,在体内实验中也发现,Klotho 可以抑制 RIG-1 介导的白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 和 IL-8 的表达^[29]。

既往研究表明,Wnt 信号通路在细胞增殖、分化和衰老中发挥重要的作用。Klotho 可能通过配体作用与 Wnt 受体相结合从而抑制 Wnt 信号通路的持续激活,进而对抗细胞凋亡和衰老^[30]。也有研究发现,Klotho 敲除小鼠胰岛素抵抗明显增强,推测 Klotho 亦可能通过干扰胰岛素(insulin)/胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 通路影响衰老进程和个体寿命^[31]。Klotho 还可直接调节内皮细胞 P53/P21 信号通路,下调 P53、P16 及其他细胞周期相关蛋白的表达,抑制衰老相关 β -半乳糖苷酶的生成,进而影响细胞增殖和衰老表型^[32]。Klotho 还可通过 PKA-cAMP 途径上调并活化平滑肌细胞内 cAMP,从而影

响平滑肌细胞的能量代谢和增殖潜能^[25]。

3.3 血管钙化

血管钙化与钙磷失调及矿化异常有关,也是 CKD 的主要血管并发症。Klotho 的表达随着 CKD 的进展而降低,在 CKD 患者和敲除 Klotho 的小鼠模型中,可以明显观察到血管中膜的钙化^[8]。Klotho 与血管钙化的关系目前一般归因于缺乏 Klotho 所导致的钙磷代谢异常;然而,Klotho 亦可主动参与血管壁的重塑。近期的研究显示,胞外高磷通过 Pit-1/Pit-3 将无机磷转运进胞内从而启动血管平滑肌细胞的矿化^[33];血管矿化进程伴随着平滑肌细胞去分化和转分化,细胞由收缩表型转化为成骨样表型,而重要的成骨样标志物 Runx-2 在其中发挥了重要的作用。Hu 等^[34]发现在 Klotho 敲除鼠的钙化病变血管中,平滑肌收缩样表型的标志分子 SM22 显著下调,而成骨样表型的标志分子 Runx-2 却明显升高。这提示血管钙化可能是一个类似于骨骼成骨的主动病理过程,缺乏 Klotho 加速了这一病理进程,而补充 Klotho 可以有效对抗血管平滑肌的成骨样转化,进而改善血管钙化。细胞实验也证实,向高磷诱导下的血管平滑肌细胞补充 Klotho 蛋白可以显著减少胞内的钙盐含量,并且抑制成骨样因子 Runx-2 和磷转运相关蛋白 Pit-1 的表达,这表明 Klotho 也可以主动抑制高磷介导的血管平滑肌细胞的成骨样转化^[35]。值得注意的是,有研究报道,钙磷调节激素维生素 D3 可以显著改善主动脉中膜钙化并增加尿毒症小鼠血清中 Klotho 的含量;体外实验也显示,维生素 D3 可以诱导人主动脉平滑肌细胞 Klotho 表达和释放,这可能为基于 Klotho 靶点的血管保护策略提供了新的思路^[36]。

3.4 Klotho 在血管壁的表达

探讨 Klotho 的血管表达有助于深化对其血管生物学作用的认识^[37]。既往研究表明,Klotho 的血管表达仅限于小鼠动脉壁内侧,体外培养的血管平滑肌细胞可以检出 Klotho 的 mRNA,但在血管内皮细胞中却没有检测到 Klotho 的表达^[38];目前,对于 Klotho 的血管壁表达仍然存有很大的争议。Sciaglia 等^[39]在人或小鼠的血管平滑肌细胞以及主动脉组织中均未检测到 Klotho 的表达;Lindberg 等^[40]仅在主动脉、髂动脉及股动脉检测到极低的 Klotho 表达。在这些研究中,基于 Western blot 及免疫组织化学的方法均未能检测到血管组织和细胞 Klotho 蛋白的表达,而定量 PCR 也仅能检测到较低水平的 Klotho mRNA。与之相反的是,Fang 等^[41]发现

Klotho 在低密度脂蛋白受体敲除小鼠 (LDLR^{-/-}) 的血管组织中表达; Jimbo 等^[42] 的研究则显示 Klotho 在大鼠主动脉表达而并非分离培养的血管平滑肌细胞。另有一些研究表明, CKD 患者的血管壁 Klotho 表达和循环 Klotho 水平均较非 CKD 样本明显降低, 体外实验也显示尿毒素或高磷可抑制血管平滑肌细胞 Klotho 的表达^[38]。以上存在的争议可能部分归因于疾病模型和实验条件的差异, 因此有必要重新评估 Klotho 抗体的敏感性及特异性, 选择特定的血管部位以及统一的体内体外疾病模型。今后也有必要进一步探讨 Klotho 在动物疾病模型、疾病患者以及正常人群血管壁的表达差异。值得注意的是, 有研究发现, Klotho 和 ADAM-17 同时在人胸主动脉表达, 由于 ADAM-17 可以剪切膜受体型 Klotho 使其成为可溶性 Klotho, 故提示血管壁或许也是循环 Klotho 的一个重要来源, 这也可能是其血管保护性机制的一个重要组成部分^[37]。

4 Klotho 心脏保护的生物学机制

4.1 Klotho 与心肌损伤

临床研究表明, Klotho 与心肌肥厚、心肌纤维化和心脏重塑有关, Klotho 被认为是心肌纤维化及尿毒症性心肌病的有益因素; 基础研究也广泛探讨了 Klotho 在心肌损伤方面的保护性作用^[43]。有研究发现, 内毒素可引起心肌损伤和热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 的降低, 外源补充重组 Klotho 蛋白有助于恢复 HSP70 的表达并改善衰老个体的心脏功能; HSP70 作为一个抗炎因子参与细胞应激反应, 与 NF- κ B 通路相互作用并拮抗其活化, Klotho 在心肌损伤中的抗炎机制可能依赖于 HSP70 的表达; Klotho 也可能作为改善内毒素介导的心肌损伤的一个重要治疗靶点^[44]。另有研究显示了 Klotho 在高糖介导的心肌损伤中具有保护作用; 外源补充 Klotho 蛋白可以显著降低糖尿病小鼠心肌氧化应激水平、减轻心肌细胞凋亡、改善心肌重塑和心脏收缩功能; 体外实验也发现, Klotho 可以下调高糖介导的 H9c2 细胞的活性氧及炎症因子, 稳定线粒体膜电位, 从而减少心肌细胞凋亡^[45]。综上, Klotho 广泛参与了氧化应激损伤条件下的心肌保护, 或可成为干预糖尿病性心肌病发病的关键因素, 并可作为改善心功能的一个重要治疗靶点。

4.2 Klotho 与心肌肥厚

心肌重塑始于机体对多种病理性应激的反应, 并以心脏结构和功能的相应改变作为主要的表现。

有研究表明, 向 Klotho 敲除小鼠注射过量异丙肾上腺素会导致明显的心肌肥厚; 相关机制可能依赖于应激损伤相关的瞬时受体电位通道 6 (transient receptor potential channel 6, TRPC6) 的激活^[46]。生理条件下的 TRPC6 通道活性很低, 应激刺激使 TRPC6 的表达上调并激活胞内钙信号通路, 从而启动钙通路依赖的心肌肥厚机制^[47]; 外源补充 Klotho 可以有效抑制心肌 TRPC6 通道的活化, 阻断心肌细胞的钙内流信号, 从而减轻心肌肥厚^[48]。Klotho 也可通过抗氧化机制改善心肌重塑, Yang 等^[49] 探讨了尿毒素、Klotho 与左心室肥厚的关系, 研究结果显示, CKD 患者体内低水平的循环 Klotho、高水平的吡啶硫酸盐与左心室质量增加密切相关; 吡啶硫酸盐可以介导小鼠的左心室肥厚并抑制 Klotho 的表达, 外源给予 Klotho 可以显著改善左心室肥厚; 体外实验进一步探讨了相关机制, 即吡啶硫酸盐介导的氧化应激导致心肌 MAPK 信号通路的激活, Klotho 可以有效抑制 MAPK 通路分子 P38 和 ERK1/2 的磷酸化, 阻断 MAPK 通路活化, 从而降低氧化应激水平, 进而改善心肌肥厚。

4.3 Klotho 与心肌纤维化

心肌纤维化涉及心肌损伤及修复机制, 并与心脏收缩功能和心血管风险密切相关。肌成纤维细胞是一种表型转化的纤维细胞, 广泛参与了心肌重塑和心力衰竭的病理生理过程^[50]。Liu 等^[51] 探讨了 Klotho 在心肌纤维化中的作用, 分别用 130 kDa 和 65 kDa 的 Klotho 蛋白处理肌成纤维细胞, 结果显示 130 kDa Klotho 可以介导肌成纤维细胞的增殖和 I 型胶原蛋白的合成, 而 65 kDa Klotho 却抑制了细胞的增殖和胶原蛋白的合成。130 kDa Klotho 具有促进心肌纤维化的作用, 而 65 kDa Klotho 则能够对抗心肌纤维化。这一发现表明, 不同类型的 Klotho 蛋白在心肌纤维化进程中发挥着截然相反的作用, 也为进一步干预心肌纤维化提供了新的防治思路。肌成纤维细胞出现在心肌损伤后的心肌重塑进程中, 并通过瘢痕修复机制修复损伤的心肌区域^[52]。130 kDa Klotho 增强了肌成纤维细胞增殖效应及胶原蛋白合成能力, 这有助于强化损伤心肌的结构, 代偿降低的收缩功能; 但另一方面, 合成的细胞外基质在损伤区域外大量积累可继发心肌僵硬和心功能不全。因此, 65 kDa Klotho 基于抑制肌成纤维细胞增殖和胞外基质积累的机制可以发挥抗心肌纤维化的作用。此外, 也有研究发现 Klotho 可能通过介导胰岛素抵抗来影响心肌重塑和心肌纤维化,

但具体分子机制仍不清楚^[53-54]。

5 结 语

综上所述, Klotho 在心血管疾病的发病和进展中发挥了重要的作用。Klotho 的心血管保护作用具有多效性, 其生物学机制涉及了内皮功能障碍、平滑肌表型转化、炎症激活、氧化应激、凋亡衰老等重要的病理生理过程。缺乏 Klotho 显著增加心血管疾病风险, 低水平 Klotho 是血管疾病和心功能异常的重要危险因素。因此, 调控组织 Klotho 表达、调节循环 Klotho 水平有助于维持血管稳态和正常的心功能。鉴于其在心血管疾病中的关键作用, Klotho 可能作为重要的干预靶点, 并为心血管疾病预防开辟新的途径。

[参考文献]

- [1] Bettinger N, Palmerini T, Caixeta A, et al. Risk stratification of patients undergoing medical therapy after coronary angiography[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(40): 3103-3110.
- [2] Roffi M, Patrono C, Collet J, et al. 2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(3): 267-315.
- [3] Ladeiras-Lopes R, Fontes-Carvalho R, Bettencourt N, et al. Novel therapeutic targets of metformin: metabolic syndrome and cardiovascular disease [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(7): 869-877.
- [4] Eggers KM, Kempf T, Venge P, et al. Improving long-term risk prediction in patients with acute chest pain: The Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) risk score is enhanced by selected nonnecrosis biomarkers[J]. *Am Heart J*, 2010, 160(1): 88-94.
- [5] Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(12): 1119-1131.
- [6] Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging[J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(2): 174-193.
- [7] Kurosu H. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho[J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1829-1833.
- [8] Vervloet MG, Adema AY, Larsson TE, et al. The role of Klotho on vascular calcification and endothelial function in chronic kidney disease[J]. *Semin Nephrol*, 2014, 34(6): 578-585.
- [9] Wang Y, Sun Z. Current understanding of Klotho[J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8(1): 43-51.
- [10] Harvey A, Montezano AC, Lopes RA, et al. Vascular fibrosis in aging and hypertension: molecular mechanisms and clinical implications[J]. *Can J Cardiol*, 2016, 32(5): 659-668.
- [11] Kamari Y, Fingrut O, Shaish A, et al. The effect of Klotho treatment on atherogenesis, blood pressure, and metabolic parameters in experimental rodent models[J]. *Horm Metab Res*, 2016, 48(3): 196-200.
- [12] Kuro-O M. Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence [J]. *Biol Chem*, 2008, 389(3): 233-241.
- [13] Yamamoto M, Clark J D, Pastor J V, et al. Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone Klotho[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 38029-38034.
- [14] Semba RD, Cappola AR, Sun K, et al. Plasma Klotho and cardiovascular disease in adults[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2011, 59(9): 1596-1601.
- [15] Martín-Núñez E. Implications of Klotho in vascular health and disease[J]. *World J Cardiol*, 2014, 6(12): 1262.
- [16] Navarro-González JF, Donate-Correa J, Muros De Fuentes M, et al. Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease[J]. *Heart*, 2013, 100(1): 34-40.
- [17] Kitagawa M, Sugiyama H, Morinaga H, et al. A decreased level of serum soluble Klotho is an independent biomarker associated with arterial stiffness in patients with chronic kidney disease[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56695.
- [18] Brandenburg VM, Kleber ME, Vervloet MG, et al. Soluble Klotho and mortality: the ludwigshafen risk and cardiovascular health study[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 242(2): 483-489.
- [19] Seiler S, Rogacev KS, Roth HJ, et al. Associations of FGF-23 and sKlotho with cardiovascular outcomes among patients with CKD stages 2-4[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014, 9(6): 1049-1058.
- [20] Ikushima M, Rakugi H, Ishikawa K, et al. Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339(3): 827-832.
- [21] Saito Y, Yamagishi T, Nakamura T, et al. Klotho protein protects against endothelial dysfunction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 248(2): 324-329.
- [22] Saito Y, Nakamura T, Ohyama Y, et al. In Vivo Klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276(2): 767-772.
- [23] Balasubramanian P, Longo VD. Linking Klotho, Nrf2, MAP kinases and aging[J]. *Aging*, 2010, 2(10): 632-633.
- [24] Yao Y, Wang Y, Zhang Y, et al. Klotho ameliorates oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced oxidative stress via regulating LOX-1 and PI3K/Akt/eNOS pathways [J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 77.
- [25] Wang Y, Kuro-O M, Sun Z. Klotho gene delivery suppresses Nox2 expression and attenuates oxidative stress in rat aortic smooth muscle cells via the cAMP-PKA pathway[J]. *Aging Cell*, 2012, 11(3): 410-417.
- [26] Sun S, Cheng B, Sun PG, et al. RTEF-1 protects against oxidative damage induced by H₂O₂ in human umbilical vein endothelial cells through Klotho activation [J]. *Exp Bio Med*, 2015, 240(12): 1606-1613.
- [27] Six I, Okazaki H, Gross P, et al. Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93423.
- [28] Maekawa Y, Ishikawa K, Yasuda O, et al. Klotho suppresses

- TNF- α -induced expression of adhesion molecules in the endothelium and attenuates NF- κ B activation [J]. *Endocrine*, 2009, 35(3): 341-346.
- [29] Xia W, Zhang A, Jia Z, et al. Klotho contributes to pravastatin effect on suppressing IL-6 production in endothelial cells [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 1-6.
- [30] Olejnik A, Franczak A, Krzywonos-Zawadzka A, et al. The biological role of Klotho protein in the development of cardiovascular diseases [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 1-17.
- [31] Unger RH. Klotho-induced insulin resistance: a blessing in disguise? [J]. *Nat Med*, 2006, 12(1): 56-57.
- [32] Sopjani M, Rinnerthaler M, Kruja J, et al. Intracellular signaling of the aging suppressor protein Klotho [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15(1): 27-37.
- [33] Mencke R, Hillebrands JL. The role of the anti-ageing protein Klotho in vascular physiology and pathophysiology [J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 35: 124-146.
- [34] Hu MC, Shi M, Zhang J, et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(1): 124-136.
- [35] Chen T, Kuro-O M, Chen C, et al. The secreted Klotho protein restores phosphate retention and suppresses accelerated aging in Klotho mutant mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 698(1-3): 67-73.
- [36] Lau WL, Leaf EM, Hu MC, et al. Vitamin D receptor agonists increase Klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet [J]. *Kidney Int*, 2012, 82(12): 1261-1270.
- [37] Donate-Correa J, Mora-Fernández C, Martínez-Sanz R, et al. Expression of FGF23/KLOTHO system in human vascular tissue [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 165(1): 179-183.
- [38] Lim K, Lu T, Molostvov G, et al. Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23 [J]. *Circulation*, 2012, 125(18): 2243-2255.
- [39] Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification [J]. *Kidney Int*, 2013, 83(6): 1159-1168.
- [40] Lindberg K, Olauson H, Amin R, et al. Arterial Klotho expression and FGF23 effects on vascular calcification and function [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60658.
- [41] Fang Y, Ginsberg C, Sugatani T, et al. Early chronic kidney disease-mineral bone disorder stimulates vascular calcification [J]. *Kidney Int*, 2014, 85(1): 142-150.
- [42] Jimbo R, Shimosawa T. Cardiovascular risk factors and chronic kidney disease-FGF23: a key molecule in the cardiovascular disease [J]. *Int J Hypertens*, 2014, 2014: 1-9.
- [43] Hui H, Zhai Y, Ao L, et al. Klotho suppresses the inflammatory responses and ameliorates cardiac dysfunction in aging endotoxemic mice [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 15663.
- [44] Krause M, Heck TG, Bittencourt A, et al. The chaperone balance hypothesis: the importance of the extracellular to intracellular HSP70 ratio to inflammation-driven type 2 diabetes, the effect of exercise, and the implications for clinical management [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 1-12.
- [45] Guo Y, Zhuang X, Huang Z, et al. Klotho protects the heart from hyperglycemia-induced injury by inactivating ROS and NF- κ B-mediated inflammation both in vitro and in vivo [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(1): 238-251.
- [46] Wu X, Eder P, Chang B, et al. TRPC channels are necessary mediators of pathologic cardiac hypertrophy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(15): 7000-7005.
- [47] Bush EW, Hood DB, Papst PJ, et al. Canonical transient receptor potential channels promote cardiomyocyte hypertrophy through activation of calcineurin signaling [J]. *J Bio Chem*, 2006, 281(44): 33487-33496.
- [48] Sabourin J, Robin E, Raddatz E. A key role of TRPC channels in the regulation of electromechanical activity of the developing heart [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 92(2): 226-236.
- [49] Yang K, Wang C, Nie L, et al. Klotho protects against indoxyl sulphate-induced myocardial hypertrophy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(10): 2434-2446.
- [50] Weber KT, Sun Y, Gerling IC, et al. Regression of established cardiac fibrosis in hypertensive heart disease [J]. *Am J Hypertens*, 2017, 30(11): 1049-1052.
- [51] Liu X, Chen Y, McCoy CW, et al. Differential regulatory role of soluble Klothos on cardiac fibrogenesis in hypertension [J]. *Am J Hypertens*, 2016, 29(10): 1140-1147.
- [52] van den Borne SW, Diez J, Blankesteyn WM, et al. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2010, 7(1): 30-37.
- [53] Fan J, Sun Z. The Antiaging gene Klotho regulates proliferation and differentiation of adipose-derived stem cells [J]. *Stem Cells*, 2016, 34(6): 1615-1625.
- [54] Jia G, Demarco VG, Sowers JR. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(3): 144-153.

(此文编辑 许雪梅)