

文章编号:1003-2754(2023)08-0763-06

doi:10.19845/j.cnki.zfyjbjzz.2023.0172

Klotho 与脑血管疾病的关系及其相关生物学机制

任颖洁综述, 田庆华, 姜亦欣, 王丽华, 张荟雪审校

摘要: 脑血管疾病是全世界范围内导致死亡和残疾的主要原因之一。血管的稳态和恢复对机体十分关键。Klotho 参与多种病理生理过程,如衰老和钙磷代谢等,与血管病密切相关,是重要的内源性多效蛋白。近期临床研究发现,Klotho 水平较低,与导致脑血管疾病的诸多危险因素密切相关,故推测其对缺血性、出血性脑血管病及不良预后的发病风险有一定的预判作用;相关的基础研究也显示,Klotho 在维持血管稳态的过程中起到至关重要的作用。Klotho 有促进一氧化氮(NO)生成,抑制炎症因子表达,介导抗氧化衰老的生物学作用,对动脉粥样硬化和血管钙化有一定的延缓作用。由此,Klotho 或可作为新的靶点,提供预防和治疗脑血管病的新思路。综述 Klotho 与脑血管病及其潜在的生物学机制之间的关系。

关键词: Klotho; 脑血管疾病; 血管保护; 氧化应激; 动脉粥样硬化

中图分类号:R743 文献标识码:A

Association of Klotho with cerebrovascular disease and associated biological mechanisms REN Yingjie, TIAN Qinghua, JIANG Yixin, et al. (The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract: Cerebrovascular disease is one of the leading causes of death and disability across the world. Vascular homeostasis and recovery is critical to the body. Klotho is an important endogenous pleiotropic protein involved in a variety of pathophysiological processes, such as aging and calcium and phosphorus metabolism, which is closely associated with vascular disease. Recent clinical studies have demonstrated close links between low Klotho levels and various risk factors for cerebrovascular disease, suggesting that Klotho has the potential of predicting the risk of ischemic and hemorrhagic cerebrovascular diseases and poor prognosis. Basic studies have also shown that Klotho plays a crucial role in the maintenance of vascular homeostasis. Klotho can promote the production of nitric oxide, inhibit the expression of inflammatory factors, and mediate antioxidant and anti-aging effects, which can delay atherosclerosis and vascular calcification. Therefore, Klotho may serve as a new target for the prevention and treatment of cerebrovascular disease. This review provides an overview of the relationship between Klotho and cerebrovascular disease and its potential biological mechanisms.

Key words: Klotho; Cerebrovascular disease; Vascular protection; Oxidative stress; Atherosclerosis

根据世界卫生组织的数据,脑卒中是仅次于心脏病的第二大死因,也是造成身体残疾的罪魁祸首^[1,2],致残率高,死亡率高。在过去的大量研究证据中,发现了许多脑血管的危险因素,如老化、不良生活方式、高血压、糖尿病、肥胖和心房颤动等。随着近年来脑卒中病理机制列表的持续增长,对脑血管疾病的治疗方案也层出不穷,通过药物或手术干预,有效地优化了卒中单元,但仍然存在未知的进展风险并严重影响其临床预后;所以现在探索新的治疗靶点尤为重要,尤其是那些涉及很多致病机制的靶点。Klotho 作为一种重要的内源性多效蛋白,与血管疾病密切相关,参与了许多代谢过程。因此,Klotho 或可作为新靶点,提供预防和治疗脑卒中的新思路。Klotho 基因于1997年首次被发现,并被确定在各种组织类型中高表达,包括肾脏和大脑

中^[3]。其编码蛋白涉及多种生物学机制,主要与衰老过程密切相关,还与血管保护、抗炎、抗氧化及神经保护相关^[4-6]。尤其在鼠肾小管和大脑的脉络丛中,Klotho 的功能突变或缺失会导致一种与人类早衰类似的表现,包括活动不足、皮肤肌肉萎缩、内皮功能障碍、骨质疏松、进行性动脉粥样硬化和血管钙化等,而 Klotho 的过表达则可以逆转上述表现,抵抗氧化应激和提高认知能力,能使小鼠的寿命延长 20%~30%^[7-9]。在人类中,血清 α -Klotho 水平在 40 岁后随着年龄的增长而降低^[10,11]。这些结果均表明,在机体老化的调节过程中,Klotho 可能起到关键作用。Klotho 最早是作为成纤维细胞生长因

收稿日期:2023-02-28;修订日期:2023-07-10

作者单位:(哈尔滨医科大学附属第二医院,黑龙江 哈尔滨 150081)

通信作者:张荟雪, E-mail: zhanghuixue2009@163.com

子-23 (fibroblast growth factor-23, FGF23) 的受体为人所熟知, 主要用于调节磷酸盐稳态和内皮功能^[12], 相关动物模型研究表明, Klotho 蛋白通过体液途径产生一氧化氮(NO)来保护内皮功能^[13,14], 参与血管病理生理的相关机制。在遗传学研究中, Klotho 基因变异与早发性缺血性卒中的风险相关, 并且是脑卒中的预测因子^[15]。近期研究发现, 慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)患者的颅内血管钙化程度与低水平的 Klotho 密切相关, 且在低 Klotho 水平的 CKD 患者中动脉粥样硬化和小动脉硬化的发病率高^[16]。此外, 在相关临床研究中, 血中高水平的 Klotho 与发生脑卒中和大血管疾病的风险降低相关, 还与脑卒中功能预后及血管性认知障碍密切相关^[17]。因此, Klotho 很可能作为防治脑血管疾病的一种重要因素并参与血管保护。本文旨在对 Klotho 与脑血管疾病关系及其可能的相关生物学机制综述如下。

1 Klotho 的结构及表达

Kl 基因(称为 α -Klotho 或 Klotho)是由 Kuroo 等^[3]1997 首次发现的。作为一种抗衰老基因, 在人类、小鼠中高度保守。表达的 α -Klotho 蛋白在物种之间也是高度同源, 尤其是 α -Klotho 蛋白序列在人和小鼠之间的同源比例高达 98%。人类 Kl 基因位于 13 号染色体上, 由 5 万个碱基对组成, 包含 5 个外显子。该基因编码一种 1 型跨膜多效性蛋白, 主要在肾脏和大脑中表达^[18], 排出到血液和脑脊液中, 调节磷酸盐, 钙和维生素 D 的代谢。这种多功能蛋白存在 3 种不同功能类型: 首先是一种单跨膜蛋白, 为编码基因全长(1 014 个氨基酸)的膜受体型 Klotho, 相对分子质量约为 135 kDa, 含有两个独立的糖基水解结构域 KL1 和 KL2, α -Klotho 的活动和功能与这两个域有关; 之后是可溶型 Klotho, 仅含有 KL1 或同时含有 KL1 和 KL2 结构域, 从胞膜脱落下来入血即可成为循环 Klotho; 最后一种是分泌型 Klotho, 编码 N 端的 549 个氨基酸(65 ~ 70 kDa), 仅含有 KL1 结构域, 从细胞膜中释放出来。之前被认为在人类中是通过选择性剪接分泌得到的^[12,19], 然而, 在 Mencke 等人最近的一项研究中, 称分泌的 Klotho 亚型在人类中并不存在^[20]。

膜受体型 Klotho 主要表达于肾脏的近曲小管上皮及脑脉络丛细胞; 此外在其他细胞如内耳、甲状旁腺、胰腺、大肠等中也有少量表达^[21]; 组织表达的

膜受体型 Klotho 可与调控磷酸盐平衡的重要骨源性激素成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)形成复合物, 通过与 Klotho/FGF-23 受体复合物体内结合, 在钙、磷酸盐和维生素 D 代谢中起着关键作用^[12]。循环型 Klotho 则表现激素样作用, 调节相关细胞或组织功能, 例如血管内皮细胞和心肌细胞等, 主要发挥抗氧化应激、抗衰老、调控离子通道等生物学作用^[22]。

2 Klotho 与血管功能的关系

2.1 维持内皮稳态及功能 血管内皮稳态的维持是保证生命进行正常运转的基础, 内皮细胞可通过乙酰胆碱等刺激作用下释放 NO^[23]来维持一定的血管张力。相关实验发现, Klotho 基因及其表达的蛋白质在血管内皮细胞中表现出保护作用, 如抗凋亡、维持血管张力等^[19]。众所周知, 血管功能障碍在脑血管疾病发生发展中有着重要作用, 尤其是在脑卒中。在人类中, Klotho 基因的单核苷酸多态性被发现与脑卒中相关^[24]。Klotho 基因的缺失可显著减弱乙酰胆碱对主动脉和小动脉的内皮依赖性血管舒张^[14], 表明 NO 和 Klotho 之间可能存在直接的协同调控途径。有研究发现缺陷小鼠的内皮功能可以完全恢复, 通过手术使 Klotho 杂合和野生型小鼠以体液因子交换的形式异种共生连接^[14], 表明这种蛋白可作为体液因子来维持正常的内皮功能。还有研究发现, 可溶性 Klotho 可降低过氧化氢-依托泊苷诱导的人脐血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)的凋亡^[25], 且用 Klotho 治疗的 HUVECs 可部分逆转血管收缩, 调节 NO 产量^[13], 起到防治血管内皮功能障碍, 维持血管稳态的效果。总之, Klotho 可能通过改善内皮功能、增加 NO 代谢物, 来有效保障血管内皮的稳态及其功能。

2.2 抗动脉粥样硬化 动脉粥样硬化是斑块堆积引起的动脉壁纤维化改变, 是一种常见的动脉壁慢性炎症性病理变化。随着年龄增长, 脂肪和胆固醇会聚集在动脉中形成斑块, 导致管腔狭窄, 血流速度变慢, 斑块增大或者破裂引起脑血管动脉阻塞, 发生脑卒中^[26]。其次, 血管内皮中低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)及其氧化形式(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)的增加, 激活相关炎症细胞, 释放促炎细胞因子、活性氧(reactive oxygen species, ROS)和蛋白水解酶, 从而出现基质降解和动脉粥样硬化^[27]。颅内脑动脉粥样硬化

(intracranial atherosclerotic stenosis, ICAS) 是脑血管疾病的主要危险因素,特别是在亚洲人。ICAS 还与卒中复发、卒中相关发病率和未来死亡率密切相关^[28]。有研究发现,低血清水平的 Klotho 可能是动脉粥样硬化的早期预测因子^[29],另外血管 Klotho 基因的表达也被证实与临床动脉粥样硬化性疾病患者的炎症显著相关^[30]。Klotho 还对 1 型糖尿病患者动脉粥样硬化和内皮功能障碍具有保护能力^[31]。Chang 及 Kim 等人^[32]也表示血浆 FGF23 可能是脑动脉粥样硬化的潜在生物标志物,在脑卒中患者中这种推测则更加明显,之前的研究发现 FGF23 为缺血性脑血管疾病及颈动脉粥样硬化发生的危险因素^[32],Klotho 蛋白和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipid-cholesterol, HDL-C) 一样,都是颈动脉粥样硬化的保护性因素^[33],最近的研究中也表明 klotho 在治疗和预防动脉粥样硬化方面有重要意义^[27],这意味着 Klotho 蛋白的下降很可能是动脉粥样硬化发生发展的重要危险因素。

2.3 阻止血管钙化 动脉钙化是磷酸钙在血管壁上的主动沉积,是血管僵硬和衰老的标志,也是促进收缩压和脉压增加、终末器官灌注减少,导致脑卒中、收缩期高血压及缺血性心脏病的重要危险因素^[34]。据报道,Klotho 基因在血管钙化中也起着关键作用^[35]。近期研究发现,Klotho 缺陷的小鼠可能会诱发动脉钙化^[36],提示 Klotho 可能作为维持正常动脉稳态的一种关键调节剂。此外,Klotho 被推测是一种血管钙化的内源性抑制剂,并作为辅助因子与 FGF-23 结合后表现出一定的抗血管钙化作用^[37]。Moe 等人发现,与野生型小鼠相比,转基因 Klotho 过表达小鼠的血管钙化程度明显减少,可溶性 Klotho 负责直接抑制血管壁细胞的矿化、磷酸盐摄取和去分化,降低血清磷酸盐水平,从而改善高磷酸盐介导的血管钙化^[8,37]。近期关于颅内血管钙化的研究^[16]中,发现低水平的 Klotho 很可能是血管钙化的一个危险因素,而且并不仅局限于冠状动脉,在颅内血管中也有明确存在。另一项相关研究中,内源性 Klotho 在调节干细胞命运和功能方面可能发挥重要作用,Klotho 缺失可能会使干细胞中介导钙化的相关信号通路激活,使血管干细胞具有成骨分化潜能^[36],因此,我们大胆推测,Klotho 可能通过调节血管干细胞的成骨分化潜能,进而影响血管钙化程度。总之,即使 Klotho 有些作用机制尚未明确,

但仍能发现 Klotho 在减轻体内和体外血管钙化方面具有重要作用。

3 Klotho 与抗衰老

衰老是一个由遗传和环境因素引起的器官功能生理性恶化的过程,不可避免地导致机体功能下降、死亡风险增加。同样,脑血管疾病也与衰老密切相关。众所周知,Klotho 是作为一种抗衰老基因被发现的,可调控多种参与衰老过程的途径,尤其是在调节磷酸盐稳态方面^[38]。血清磷酸盐 (Pi) 水平对哺乳动物的寿命展现出极强的负相关,相关研究显示,缺乏 α -Klotho 或者 FGF23 的小鼠会停止磷酸盐代谢,由于高磷血症已被证明可诱导血管平滑肌细胞发生 DNA 损伤,导致细胞衰老^[39],从而更加明确 Klotho 的抗衰老作用。此外,Klotho 可通过抑制酪氨酸磷酸化相关受体,负调控胰岛素/胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factors-1, IGF-1) 信号通路,从而抑制衰老^[22]。近期实验证明,T3 能以剂量依赖的方式增强秀丽隐杆线虫中 Klotho 同源基因表达来延长寿命,而哺乳动物 Klotho 基因的 KL1 结构域与此线虫中的 Klotho 基因表现出极强的同源性^[40],更加说明 Klotho 可能在哺乳动物的抗衰老过程中存在重要作用。

4 Klotho 与氧化应激和炎症的关系

氧化应激在缺血性脑卒中的发生发展中有着重要作用。许多研究报道 Klotho 在氧化应激损伤过程中对机体存在保护作用。相关试验证明, α -Klotho 具有抑制胰岛素/IGF-1 信号传导的作用,通过抑制叉头转录因子 (forkhead box O, FOXO) 磷酸化的信号并促进其核易位,使易位的核 FOXO 直接与超氧化物歧化酶 2 (super oxide dismutase 2, SOD2) 结合并增加其表达,从而促进活性氧的去除^[41];另外一项研究发现, α -Klotho 缺乏症会增加内源性活性氧的产生,加剧氧化应激^[42],表明 α -Klotho 的存在可能会增强机体对氧化应激的防御。据报道,体内 Klotho 基因递送会降低 NADPH 氧化酶 2 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 2, NOX2) 的活性,阻止超氧化物过多产生,增加机体对氧化应激抵抗力的同时防止自发性高血压的进展^[43],而氧化应激和高血压本身就是脑卒中发生发展的重要危险因素,因此推测 Klotho 可能与脑血管疾病密切相关。与此同时 Klotho 还可能通过抗氧化作用在脑缺血小鼠中发挥一定的神经保护作用。

用^[33]。由此可见, Klotho 可能通过调节相关抗氧化通路及酶活性来抑制氧化应激, 保护机体。研究发现, 改善 Klotho 表达对缺血后炎症反应有明显抑制作用^[44], 协同提高抗炎细胞因子白介素-2 (interleukin-2, IL-2)、白介素-3 (interleukin-3, IL-3)、白介素-10 (Interleukin-10, IL-10) 的表达^[30,45]; Klotho 可还以抑制肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的氧化损伤, 防止活化 B 细胞的核因子 κ -轻链增强子 (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 的易位。NF- κ B 被证实是许多促炎基因 (包括 TNF- α) 的转录因子^[46], 是脑缺血后启动炎症反应的关键转录因子^[47], 由此说明 Klotho 可能在机体中发挥着有效的抗炎作用。

5 Klotho 与脑血管疾病的关系

由于 Klotho 参与了以上血管保护、抗衰、抗炎及抗氧化等过程, 因此推测 Klotho 可能会降低脑血管性疾病发生的风险。除此之外, 有研究指出, KL-VS 等位基因与早发性缺血性脑卒中存在明确相关性^[24,48,49], 证实 Klotho 是缺血性脑卒中的候选基因, 在 KL-VS 变异中还观察到突变可能会改变 Klotho 水平, 从而导致各种疾病的过早出现和持续进展 (例如脑卒中)^[50]。更有相关研究表明血浆 Klotho 浓度升高与急性缺血性卒中患者良好的功能预后相关^[51], 高 Klotho 浓度会降低发生卒中和大血管病变的风险^[52]。另外, 在了一项回顾性研究中, 经过对急性卒中后 2 年患者头部核磁的随访, 发现血浆 Klotho 浓度与发病患者中脑小血管病的进展呈负相关^[53]。有实验表明, 除了美国国立卫生研究院卒中量表 (national institutes of health stroke scale, NIHSS) 评分、格拉斯哥昏迷评分 (Glasgow coma scale, GCS) 和血肿体积外, 血浆 Klotho 还可作为脑出血患者 90 d 不良预后的独立预测因素^[54], 是血液透析患者脑血管疾病的潜在预测因子^[55], 以上均表明 klotho 的降低可能会使脑卒中发生风险增高, 是对脑血管疾病预后产生不良影响的危险因素。近期研究中通过建立小鼠全脑缺血再灌注模型, 应用神经行为学评分、Nissl 染色等指标比较, 发现 Klotho 过度表达对小鼠脑缺血再灌注神经行为学障碍有明显改善, 降低对海马和纹状体损伤^[43]。由此, 人为干预 Klotho 的表达, 不失为研究治疗老年急性缺血性脑卒中的一种新方向。

此外, 作为内源性抗氧化防御系统的一部分,

Klotho 是一种强大的神经保护因子, 在海马中具有重要的神经保护作用^[48,57]。近期相关研究发现, Klotho 可以缓解颞叶癫痫小鼠模型中的神经炎症^[58], 在相关小鼠模型中, Klotho 缺陷小鼠会表现出对学习和记忆能力的损害, 推测 Klotho 的过表达可能有改善认知功能的作用。在对人类的研究中发现, Klotho 也同样增强了学习和记忆能力, 在近期研究中, 通过 3 个独立队列分析, 发现 Klotho-VS 多态性的杂合子携带者在关于认知功能的神经心理测试中得分较其他组人显著增高, 得出升高 Klotho 水平有可能提升人类和啮齿类动物的认知能力^[59]。还有研究中发现 Klotho 能促进少突胶质细胞成熟和髓鞘形成^[57], 以上都体现出 Klotho 可能存在重要神经保护作用。

近期有研究发现脑内 Klotho 过表达可显著改善脑缺血后的神经炎性病理改变^[41,60], 展现出 Klotho 具有抗氧化和神经保护的特性。还有研究显示 Klotho 过表达可通过抑制视黄酸诱导基因蛋白-1 (retinoic acid inducible gene I, RIG-I)/NF- κ B 信号通路的激活, 降低促炎细胞因子的产生, 在脑缺血后表现出显著的抗炎作用^[43], 表明 Klotho 可能作为一种内源性神经保护剂, 对急性缺血性脑卒中导致的损伤有直接保护作用。

6 总结

综上所述, 在脑血管性疾病的发生进展过程中, Klotho 可能扮演着举足轻重的角色 Klotho 的血管保护作用具有多效性, 涉及多种重要病理生理过程, 如改善内皮功能、延缓动脉粥样硬化和血管钙化等, 同时还具有防止炎症活化、抗氧化应激、减缓老化等作用, 低水平 Klotho 是血管稳态失衡的重要危险因素, Klotho 的缺乏可能会显著增加脑血管疾病发生进展的风险。因此, 调控组织 Klotho 表达、调节循环 Klotho 水平对脑血管稳态的维持有一定作用。因此, Klotho 或可作为新的靶点, 提供预防和治疗脑血管病的新思路。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 任颖洁负责设计论文框架、收集文献、起草论文、论文修改; 田庆华、姜亦欣、王丽华负责论文修改; 张荟雪负责对文章的知识性内容作批评性审阅及论文修改。

[参考文献]

- [1] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart disease and stroke statistics; 2015 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2015, 131(4): e29-e322.
- [2] Katan M, Luft A. Global burden of stroke [J]. *Semin Neurol*, 2018, 38(2): 208-211.
- [3] Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing [J]. *Nature*, 1997, 390(6655): 45-51.
- [4] Cui W, Leng B, Wang G. Klotho protein inhibits H₂O₂-induced oxidative injury in endothelial cells via regulation of PI3K/AKT/Nrf2/HO-1 pathways [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(5): 370-376.
- [5] Shen Y, Yan Y, Lu L, et al. Klotho ameliorates hydrogen peroxide-induced oxidative injury in TCMK-1 cells [J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(4): 787-798.
- [6] Oh HJ, Nam BY, Lee MJ, et al. Decreased circulating klotho levels in patients undergoing dialysis and relationship to oxidative stress and inflammation [J]. *Perit Dial Int*, 2015, 35(1): 43-51.
- [7] Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho [J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1829-1833.
- [8] 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.
- [9] Hu MC, Shi M, Cho HJ, et al. Klotho and phosphate are modulators of pathologic uremic cardiac remodeling [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(6): 1290-1302.
- [10] Yamazaki Y, Imura A, Urakawa I, et al. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement; age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398(3): 513-518.
- [11] Pedersen L, Pedersen SM, Brasen CL, et al. Soluble serum Klotho levels in healthy subjects. Comparison of two different immunoassays [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(12): 1079-1083.
- [12] Wang Y, Sun Z. Current understanding of klotho [J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8(1): 43-51.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] Yokoyama S, Oguro R, Yamamoto K, et al. A klotho gene single nucleotide polymorphism is associated with the onset of stroke and plasma klotho concentration [J]. *Ageing*, 2018, 11(1): 104-114.
- [16] Carvalho LCDB, Velozo MP, Coelho VA, et al. Low levels of klotho are associated with intracranial vascular calcification in patients with CKD [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30(10): 105745.
- [17] Vinters HV, Magaki SD, Williams CK. Neuropathologic findings in chronic kidney disease (CKD) [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30(9): 105657.
- [18] Tohyama O, Imura A, Iwano A, et al. Klotho is a novel beta-glucuronidase capable of hydrolyzing steroid beta-glucuronides [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(11): 9777-9784.
- [19] Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho; from gene to function in aging [J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(2): 174-193.
- [20] Mencke R, Harms G, Moser J, et al. Human alternative Klotho mRNA is a nonsense-mediated mRNA decay target inefficiently spliced in renal disease [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(20): e94375.
- [21] Kuro-o M. Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence [J]. *Biol Chem*, 2008, 389(3): 233-241.
- [22] Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, et al. Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 38029-38034.
- [23] Theofilis P, Sagrais M, Oikonomou E, et al. Inflammatory mechanisms contributing to endothelial dysfunction [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(7): 781.
- [24] Arking DE, Atzmon G, Arking A, et al. Association between a functional variant of the KLOTHO gene and high-density lipoprotein cholesterol, blood pressure, stroke, and longevity [J]. *Circ Res*, 2005, 96(4): 412-418.
- [25] 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.
- [26] Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126.
- [27] 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): 1-10.
- [28] Bang OY. Intracranial atherosclerosis: current understanding and perspectives [J]. *J Stroke*, 2014, 16(1): 27-35.
- [29] Keles N, Caliskan M, Dogan B, et al. Low serum level of klotho is an early predictor of atherosclerosis [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2015, 237(1): 17-23.
- [30] Martín-Núñez E, Donate-Correa J, López-Castillo Á, et al. Soluble levels and endogenous vascular gene expression of KLOTHO are related to inflammation in human atherosclerotic disease [J]. *Clin Sci*, 2017, 131(21): 2601-2609.
- [31] Keles N, Dogan B, Kalcik M, et al. Is serum Klotho protective against atherosclerosis in patients with type 1 diabetes mellitus [J]. *J Diabetes Complicat*, 2016, 30(1): 126-132.
- [32] Chang Y, Kim J, Woo HG, et al. Plasma Fibroblast Growth Factor 23 Concentration Is Associated with Intracranial Cerebral Atherosclerosis in Acute Ischemic Stroke Patients [J]. *J Clin Neurol*, 2020, 16(1): 29-36.

- [33] Chang Y, Kim J, Woo HG, et al. Plasma fibroblast growth factor 23 concentration is associated with intracranial cerebral atherosclerosis in acute ischemic stroke patients [J]. *J Clin Neurol*, 2020, 16(1):29.
- [34] Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease [J]. *Circulation*, 2008, 117(22):2938-2948.
- [35] Zhao Y, Zhao MM, Cai Y, et al. Mammalian target of rapamycin signaling inhibition ameliorates vascular calcification via Klotho upregulation [J]. *Kidney Int*, 2015, 88(4):711-721.
- [36] Lin Y, Sun Z. Klotho deficiency-induced arterial calcification involves osteoblastic transition of VSMCs and activation of BMP signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(1):720-729.
- [37] Lim K, Lu TS, 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.
- [38] Kuro-o M. The Klotho proteins in health and disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(1):27-44.
- [39] Di Marco GS, Hausberg M, Hillebrand U, et al. Increased inorganic phosphate induces human endothelial cell apoptosis in vitro [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294(6):F1381-F1387.
- [40] Mohanty SK, Suchiang K. Triiodothyronine (T3) enhances lifespan and protects against oxidative stress via activation of Klotho in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Biogerontology*, 2021, 22(4):397-413.
- [41] Kuang X, Chen YS, Wang LF, et al. Klotho upregulation contributes to the neuroprotection of ligustilide in an Alzheimer's disease mouse model [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(1):169-178.
- [42] Izbeki F, Asuzu DT, Lorincz A, et al. Loss of Kitlowprogenitors, reduced stem cell factor and high oxidative stress underlie gastric dysfunction in progeric mice [J]. *J Physiol*, 2010, 588(16):3101-3117.
- [43] Wang Y, Sun Z. Klotho gene delivery prevents the progression of spontaneous hypertension and renal damage [J]. *Hypertension*, 2009, 54(4):810-817.
- [44] Zhou HJ, Li H, Shi MQ, et al. Protective effect of klotho against ischemic brain injury is associated with inhibition of RIG-I/NF- κ B signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 8:950.
- [45] Mytych J. Klotho and neurons: mutual crosstalk between autophagy, endoplasmic reticulum, and inflammatory response [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(8):1542-1543.
- [46] 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.
- [47] Xu H, Qin W, Hu X, et al. Lentivirus-mediated overexpression of OTULIN ameliorates microglia activation and neuroinflammation by depressing the activation of the NF- κ B signaling pathway in cerebral ischemia/reperfusion rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1):83.
- [48] Majumdar V, Nagaraja D, Christopher R. Association of the functional KL-VS variant of Klotho gene with early-onset ischemic stroke [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 403(3/4):412-416.
- [49] Li Y, Zhang Q, Bao H, et al. Association of Klotho gene polymorphism with cerebral infarction [J]. *J Med Biochemistry*, 2022, 41(2):204-210.
- [50] Nakanishi K, Nishida M, Taneike M, et al. Serum klotho levels contribute to the prevention of disease progression [J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14:229-236.
- [51] Lee JB, Woo HG, Chang Y, et al. Plasma Klotho concentrations predict functional outcome at three months after acute ischemic stroke patients [J]. *Ann Med*, 2019, 51(3/4):262-269.
- [52] Pan HC, Chou KM, Lee CC, et al. Circulating Klotho levels can predict long-term macrovascular outcomes in type 2 diabetic patients [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 276:83-90.
- [53] Woo HG, Chang Y, Ryu DR, et al. Plasma Klotho concentration is associated with the presence, burden and progression of cerebral small vessel disease in patients with acute ischaemic stroke [J]. *PLoS One*, 2019, 14(8):e0220796.
- [54] Hu ZJ, Wang XC, Zhu LC, et al. Circulating Klotho is linked to prognosis of acute intracerebral hemorrhage [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 497:114-119.
- [55] Wei H, Li H, Song X, et al. Serum klotho: a potential predictor of cerebrovascular disease in hemodialysis patients [J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1):63.
- [56] Abraham CR, Mullen PC, Tucker-Zhou T, et al. Klotho is a neuroprotective and cognition-enhancing protein [J]. *Vitam Horm*, 2016, 101:215-238.
- [57] Zeldich E, Chen CD, Colvin TA, et al. The neuroprotective effect of Klotho is mediated via regulation of members of the redox system [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(35):24700-24715.
- [58] Xiang T, Luo X, Ye L, et al. Klotho alleviates NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation in a temporal lobe epilepsy rat model by activating the Nrf2 signaling pathway [J]. *Epilepsy Behav*, 2022, 128:108509.
- [59] Dubal DB, Yokoyama JS, Zhu L, et al. Life extension factor klotho enhances cognition [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(4):1065-1076.
- [60] Olejnik A, Banaszkiwicz M, Krzywonos-Zawadzka A, et al. The Klotho protein supports redox balance and metabolic functions of cardiomyocytes during ischemia/reperfusion injury [J]. *Cardiol J*, 2022, 29(5):836-849.

引证本文:任颖洁,田庆华,姜亦欣,等. Klotho与脑血管疾病的关系及其相关生物学机制 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2023, 40(8):763-768.