

内分泌专题

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001598

Klotho 与糖尿病及糖尿病肾病的研究进展

姚璐, 邓华聪

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016)

【摘要】Klotho 基因是一种抗衰老基因, 在体内有广泛表达, 具有抗炎、抗氧化、抗凋亡等作用。近年研究显示, Klotho 表达水平下降与糖尿病及糖尿病肾病的病理进展相关, 过表达 Klotho 基因或给予外源性 Klotho 蛋白则具有明显改善作用。同时 Klotho 可能通过对内皮素-1 对乙型糖尿病患者的血管病变产生影响。这些结果提示 Klotho 可望成为糖尿病的重要治疗靶点。

【关键词】Klotho; 糖尿病; 糖尿病肾病; 糖尿病大血管疾病; 研究进展

【中图分类号】R587.1

【文献标志码】A

【收稿日期】2017-09-22

Klotho on diabetes mellitus and diabetic nephropathy

Yao Lu, Deng Huacong

(Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Klotho gene is a widely expressed anti-aging gene, with functions of anti-inflammatory, anti-oxidation, anti-apoptosis, etc. In recent years, studies have shown that decreased level of Klotho expression is associated with pathologic progression of diabetes and diabetic nephropathy, which can be improved by overexpressing Klotho or adding exogenous Klotho protein. Moreover, Klotho may have an effect on vasculopathy in patients with T2DM by endothelin-1. Therefore, Klotho may become an important therapeutic target for diabetes.

【Key words】Klotho; diabetes mellitus; diabetic nephropathy; diabetic microvascular diseases; research progress

2013年的横断面调查显示, 在中国成年人中, 糖尿病的总患病率估计为 10.9%^[1], 再次证实我国可能已成为世界上糖尿病患病人数最多的国家。近年来回顾性统计分析显示 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 住院病人各种慢性并发症患病率为: 大血管并发症 67.27%、糖尿病肾病 42.13%、糖尿病视网膜病 35.38%、糖尿病周围神经病 32.66%, 总患病率 84.26%^[2]。糖尿病及其慢性并发症的治疗已经成为未来巨大的挑战, 传统治疗已无法满足当前需求, 寻求新的治疗靶点尤为重要。Klotho (KL) 基因是 1 种抗衰老基因, 越来越多的研究表明 KL 在糖尿病及糖尿病肾病的诊治中发挥重要而积极的作用, KL 可望成为重要治疗靶点。本文就近年来关于 KL 与糖尿病及糖尿病肾病等慢性并发症的研究进展进行综述。

1 KL 基因概述

1.1 KL 基因

KL 基因最初是于 1997 年, 由 Kuro-o 等^[3]在研究自发性

高血压大鼠模型时发现的一种抗衰老基因, 研究中发现 KL 基因缺失动物模型表现为寿命缩短、动脉硬化、骨质疏松等一系列衰老征象, 而过表达 KL 基因可延长动物模型的寿命及改善衰老相关表现。KL 由 5 个外显子和 4 个内含子组成。大鼠 KL 基因位于染色体 12q12, 小鼠和人的 KL 基因位于 13q12^[4]。KL 基因主要表达于肾脏, 另外在胰腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、卵巢、睾丸、胎盘、垂体、血管、上皮组织、视网膜、神经组织等部位均有表达^[5-8]。

1.2 Klotho 蛋白分类及结构特点

由 KL 基因编码的蛋白质分为 3 类, 分别为 α -Klotho、 β -Klotho 及 Klotho 相关蛋白^[9]。人类 KL 基因编码 α -Klotho 蛋白, α -Klotho 蛋白可进一步分为膜型 KL 蛋白、可溶性 KL (soluble Klotho, sKlotho) 蛋白以及分泌型 KL 蛋白 3 种类型^[10]。膜型 KL 蛋白是一种由 5 个外显子的转录体编码的含有 1 014 个氨基酸组成的单通道跨膜蛋白, 包括 1 个 N 末端信号序列、2 个具有重复序列的 KL1 和 KL2 胞外区、1 个单跨膜区及 1 个短的胞内区。研究表明, 膜型 KL 蛋白在体内调节钙磷代谢中发挥重要作用^[11]。膜型 KL 蛋白的胞外区可以被蛋白酶水解脱落, 产生包含 KL1 和 KL2 序列的片段, 在血液、尿液和脑脊液中可检测到, 在体内作为一种内分泌激素发挥作用, 具有抗炎、抗氧化及抗凋亡等作用, 称其为 sKlotho 蛋白^[12]。而分泌型 KL 蛋白是由 3 个外显子的转录体编码的含有 550 个氨基酸组成的蛋白, 主要包括 N 末端序列和 KL1 胞外区, 目前关于分泌型 KL 蛋白的作用尚不清楚。

作者介绍: 姚璐, Email: 1063665742@qq.com,

研究方向: 2 型糖尿病慢性并发症的防治。

通信作者: 邓华聪, Email: huacong_deng@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目 (编号: 81270911, 81070639);

国家临床重点专科建设资助项目 (编号: 财社[2011]170 号)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180408.1443.038.html>

(2018-04-09)

2 Klotho 与糖尿病

目前已公认 T2DM 发生的病理机制是胰岛素抵抗和 β 细胞功能受损。英国前瞻性研究证实,诊断 T2DM 时 β 细胞的分泌功能已经降低 50%^[13],因此如何保护 β 细胞功能成为治疗 T2DM 的关键。众多研究显示,在 T2DM 患者及小鼠胰岛中 KL 基因表达是减少的^[14-16]。Lin 和 Sun^[14]的研究显示,db/db 小鼠胰腺 β 细胞 KL 基因的过表达可改善高血糖导致的 β 细胞损伤,降低高血糖并增加糖耐量。此外,增加循环中的 KL 蛋白对糖尿病也有类似效果。Forsberg 等^[15]的研究显示,db/db 小鼠肝脏中 KL 的过表达导致血糖水平下降及胰岛 β 细胞功能得以改善。这些结果提示,无论是过表达 KL 基因还是补充外源性 KL 蛋白对糖尿病均产生有益影响,提供了 KL 作为糖尿病潜在治疗靶点的依据。深入研究发现可能涉及如下机制。

2.1 改善氧化应激及内质网应激

活性氧(reactive oxygen,ROS)引起的氧化应激对糖尿病发展过程中 β 细胞功能的损害至关重要^[17]。同时内质网应激可以导致 β 细胞中未折叠、错误折叠或聚集的蛋白质的积累,进而损害 β 细胞功能^[18]。Lin 和 Sun^[14]的研究发现 db/db 小鼠 β 细胞过表达 KL 基因降低胰岛细胞 ROS 水平、氧化损伤和内质网应激,进而抑制胰岛细胞凋亡及促进其增殖。进一步的细胞水平研究发现其有益作用可能是部分通过抑制 rac1 消除高糖导致的 NADPH 氧化酶活性及过氧化物产生。该结果揭示 KL 减弱氧化应激及内质网应激,这将有助于 β 细胞保存。

2.2 提高胰岛素储存水平及促进胰岛素分泌

Lin 和 Sun^[14]的研究还发现 KL 能够提高胰岛素储存水平并促进胰岛素的分泌。该研究显示 db/db 小鼠 β 细胞 KL 基因过表达增加胰岛素 I 和胰岛素 II mRNA 水平及其相应的蛋白质水平,恢复 55% 的胰岛素阳性细胞,从而提高胰岛素储存水平。研究发现 KL 基因过表达后 Pdx-1 表达增加,Pdx-1 是葡萄糖刺激胰岛素基因转录的主要调节因子^[19],KL 对胰岛素合成的促进作用可能部分归因于此。同时研究显示 KL 基因过表达还通过上调短暂受体潜力 V2(transient receptor potential V2,TRPV2)及增加细胞内的钙,增强 db/db 小鼠胰岛素分泌。

2.3 参与端粒-端粒酶系统

在大多数组织中,端粒随着细胞分裂而缩短,限制细胞生长,而端粒酶的活性与维持端粒长度密切相关,两者的动态特征影响细胞衰老^[20]。1 个纳入 5 759 个病例和 6 518 个对照组的荟萃分析显示,端粒长度缩短和 T2DM 显著相关^[21]。T2DM 的胰岛 β 细胞端粒缩短,可能导致增殖和胰岛素分泌能力受损,并加速细胞死亡^[22]。Carracedo 等^[23]通过将人内皮细胞暴露于 TNF- α 获得细胞衰老,研究发现外源性 Klotho 蛋白阻止了早衰细胞的端粒长度减少。上述研究提示,KL 可能通过参与到端粒-端粒酶系统保护胰岛 β 细胞,但具体机制仍需要进一步证实。

胰岛素抵抗为 T2DM 发生发展的重要机制,但目前关于 KL 与胰岛素抵抗的研究尚存在诸多争议。几项研究表明,KL

诱导胰岛素抵抗。1 项由意大利成年人组成的前瞻性队列研究显示,血浆 KL 与超重老年人的胰岛素抵抗呈正相关^[24]。同时有动物试验显示,KL 转基因小鼠表现出寿命延长及胰岛素抵抗^[25]。但有研究指出,KL 在胰岛素抵抗综合征中下调,并且矛盾地直接抑制 IGF-1 和胰岛素信号传导^[26]。有趣的是,最新研究发现 KL 表达降低不是胰岛素抵抗的啮齿动物模型的一般特征,可溶性 KL 不抑制 HEK293, L6 和 HepG2 细胞中的 IGF-1 和(或)胰岛素信号传导,由此反对 KL 在胰岛素信号传导中的直接作用^[27]。这种相互矛盾的结果目前尚未得到准确解释,未来需要更多研究去论证。

3 Klotho 与糖尿病肾病

糖尿病肾病是导致终末期肾病的重要病因,对糖尿病病人的后期生存时间及生存质量产生重要影响^[28]。在早期糖尿病肾病患者的肾脏中,KL 基因的表达水平是降低的^[29-30]。各种体内及体外实验表明,过表达 KL 基因及补充外源性 KL 蛋白可通过多种途径保护糖尿病肾脏结构和功能,延缓糖尿病肾病的进展。

3.1 抗肾脏纤维化和抗肾小球肥大作用

肾脏纤维化及肾小球肥大是糖尿病肾病的突出表现,同时是影响肾脏功能的重要病理改变。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)及转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1,TGF- β 1)为糖尿病肾脏纤维化的重要信号通路^[31-32]。动物实验研究表明在 KL 蛋白缺乏时,可通过增强糖尿病小鼠肾脏 TGF- β 1 和 mTOR 信号通路,加重早期糖尿病肾病^[33]。而过表达 KL 基因则显著抑制糖尿病大鼠的肾脏肥大和组织病理学变化,减少肾胶原纤维产生和肾脏肥厚指数,降低纤维连接蛋白和波形蛋白的表达水平。以上保护肾脏的作用可能是通过抑制 ROCK 信号通路产生^[34]。此外在细胞研究中发现,过表达 KL 基因可通过下调早期生长反应因子 1(early growth response factor 1,Egr-1),抑制 TGF β 1/Smad3 信号通路,从而减少肾小球系膜的细胞外基质形成^[35]。同时外源 KL 蛋白可降低高糖诱导的 NRG-49F 细胞促纤维化基因表达,TGF- β 信号通路激活和细胞肥大,并通过 ERK1/2 和 p38 激酶依赖性途径下调纤连蛋白表达^[36]。上述研究提示 KL 可通过抗肾脏纤维化及肾小球肥大保护糖尿病肾脏功能。

3.2 抑制炎症反应

在人肾小球内皮细胞中,高葡萄糖浓度增加钙蛋白酶活性^[37],从而促进高血糖时促炎黏附分子在内皮细胞表面表达,进而损害肾脏^[38]。在自发性糖尿病小鼠中,KL 基因过表达抑制钙蛋白酶活性,减弱肾小球巨噬细胞浸润,减轻高糖对肾脏的损伤^[39]。细胞研究中发现,加入 sKlotho 或过表达肾小管上皮细胞中的膜型 KL 蛋白可以抑制肿瘤坏死因子- α 诱导的自然杀伤细胞- κ B(natural killer cell- κ B)的激活、白细胞介素-8 和单核细胞趋化蛋白-1 的产生及其启动子上的磷酸化 RelA(Ser)536 的募集。深入研究发现 KL 通过影响 RelA 的转录激活结构域中 Ser536 磷酸化来负向调节 NK- κ B 相关的炎症蛋白的产生,从而作为抗炎调节器发挥作用^[40]。以上研究揭示在糖尿病肾病中,KL 通过抑制炎症反应发挥积极作用。

3.3 调节矿物质代谢

糖尿病肾病是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的重要病因,在 CKD 中普遍存在钙、磷、甲状旁腺激素或维生素 D 代谢异常及骨代谢紊乱^[41]。高尿钙是糖尿病肾病的早期表现之一^[42]。多元回归分析显示 α -Klotho 的信使 RNA 与钙排泄呈负相关^[43],提示 α -Klotho 表达减少可能会影响早期糖尿病肾病的尿钙排泄。深入研究发现 KL 在肾脏作为骨源性激素成纤维生长因子 23(fibroblast growth factor 23, FGF23)的一个共同受体,抑制磷酸盐的重吸收和减少甲状旁腺激素,并通过下调 $1-\alpha$ -羟化酶转录物和上调 24 -羟化酶抑制维生素 D 的活化^[44-45]。同时钙三醇反过来刺激 Klotho 和 FGF23 的产生^[46]。所以,在肾脏 KL 和维生素 D 内分泌系统相互调节,共同维持钙磷代谢稳态,这将对糖尿病肾病患者并发血管钙化及骨代谢紊乱产生有益影响。

3.4 作为 DKD 潜在的早期标志物

KL 在糖尿病肾病诊断中的作用也被关注。众多临床研究显示 KL 蛋白与糖尿病肾病进展显著相关。1 项横断面研究发现 T2DM 患者血清 sKlotho 水平显著降低,血 sKlotho 水平与 UACR 呈负相关^[47]。另有研究发现血浆 α -Klotho 浓度与蛋白尿阶段呈负相关^[48]。最新 1 项前瞻性观察性研究显示糖尿病肾病患者血浆 α -Klotho 与 eGFR 的降低呈负相关,同时在亚组分析中血浆 α -Klotho 的水平降低可预测正常/微量白蛋白尿患者 eGFR 的快速下降^[49]。上述研究表明,血液中 KL 蛋白可能是预测 2 型糖尿病患者肾损伤的早期生物标志物,并且先于蛋白尿及肾功能损害,这可能对糖尿病肾病的诊断带来重大突破。考虑到 KL 蛋白水平受诸多因素影响,如感染、心血管疾病等,这必将降低 KL 蛋白诊断的敏感度及灵敏度。如何更好地消除混杂因素,使 KL 蛋白应用更加广泛,还需要进行大量的临床及基础研究来证实。

4 Klotho 与糖尿病相关的大血管疾病

糖尿病患者的大血管疾病发病率高,包括冠状动脉疾病、中风和外周血管疾病,这是糖尿病患者死亡的主要原因^[50-51]。既往有研究表明有或没有合并大血管疾病的糖尿病患者体内的 sKlotho 水平无显著性差异^[52],提示 sKlotho 对糖尿病患者罹患大血管疾病的发病机制可能并没有影响。但最新横断面研究发现血浆 sKlotho 与 T2DM 中的内皮素-1 前体(pro-endothelin-1, proET-1)呈负相关,但在非糖尿病对照组无此相关性^[53]。ET-1 为糖尿病血管并发症的重要介质^[54]。该研究结果表明,KL 可能通过 ET-1 对 T2DM 患者的血管病变产生影响,但仍需更多研究支持。

5 展望

综上所述,抗衰老 KL 基因通过多个途径来保护胰岛 β 细胞、糖尿病肾脏结构和功能,对延缓糖尿病及糖尿病肾病进展发挥有益作用,因此 KL 对于糖尿病及糖尿病肾病具有潜在的重要治疗价值。但考虑到在基因层面进行治疗,难度及花费均是巨大的,因此若能选择直接有效的补充替代治疗,意义则更为重大。这提示补充外源性 KL 蛋白可能是糖尿病及糖尿病肾病治疗的可能靶点。另外 KL 蛋白可能成为

先于蛋白尿及肾功能损害,预测 T2DM 患者肾损伤的早期生物标志物,这可能对糖尿病肾病诊断带来突破性进展。

参 考 文 献

- [1] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013[J]. JAMA, 2017, 317(24): 2515-2523.
- [2] 谢利平, 王国洪. 2 型糖尿病患者慢性并发症患病率及相关因素的统计分析[C]. 中国医院协会病案管理专业委员会第二十四届学术会议, 2015: 3.
- [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] Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-Iida T, et al. Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted Klotho protein[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 242(3): 626-630.
- [5] Zhang Y, Wang L, Wu Z, et al. The expressions of klotho family genes in human ocular tissues and in anterior lens capsules of age-related cataract[J]. Curr Eye Res, 2017, 42(6): 871-875.
- [6] Lim K, Groen A, Molostvov G, et al. α -Klotho expression in human tissues[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(10): E1308-1318.
- [7] Reish NJ, Maltare A, McKeown AS, et al. The age-regulating protein Klotho is vital to sustain retinal function[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(10): 6675-6685.
- [8] Olauson H, Mencke R, Hillebrands JL, et al. Tissue expression and source of circulating α -Klotho[J]. Bone, 2017(100): 19-35.
- [9] Ito S, Kinoshita S, Shiraishi N, et al. Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein[J]. Mech Dev, 2000, 98(1-2): 115-119.
- [10] Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging[J]. Endocr Rev, 2015, 36(2): 174-193.
- [11] Hu MC, Shiizaki K, Kuro-o M, et al. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism[J]. Annu Rev Physiol, 2013, 75: 503-533.
- [12] Chen CD, Tung TY, Liang J, et al. Identification of cleavage sites leading to the shed form of the anti-aging protein Klotho[J]. Biochemistry, 2014, 53(34): 5579-5587.
- [13] Matthews DR, Cull CA, Stratton IM, et al. UKPDS 26: sulphonylurea failure in non-insulin-dependent diabetic patients over six years. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group[J]. Diabet Med, 1998, 15(4): 297-303.
- [14] Lin Y, Sun Z. In vivo pancreatic β -cell specific expression of anti-aging gene Klotho: a novel approach for preserving β -cells in type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2015, 64(4): 1444-1458.
- [15] Forsberg EA, Olauson H, Larsson T, et al. Effect of systemically increasing human full-length Klotho on glucose metabolism in db/db mice[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2016(113): 208-210.
- [16] Nie F, Wu D, Du H, et al. Serum Klotho protein levels and their correlations with the progression of type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Complications, 2017, 31(3): 594-598.
- [17] Hasnain SZ, Prins JB, McGuckin MA. Oxidative and endoplasmic reticulum stress in β -cell dysfunction in diabetes[J]. J Mol Endocrinol, 2016, 56(2): R33-54.

- [18] Volchuk A, Ron D. The endoplasmic reticulum stress response in the pancreatic β -cell[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010, 12(S2): 48–57.
- [19] Al-Quobaili F, Montenarh M. Pancreatic duodenal homeobox factor-1 and diabetes mellitus type 2 (review)[J]. *Int J Mol Med*, 2008, 21(4): 399–404.
- [20] Parks JW, Stone MD. Single-molecule studies of telomeres and telomerase[J]. *Annu Rev Biophys*, 2017(46): 357–377.
- [21] Zhao J, Miao K, Wang H, et al. Association between telomere length and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79993.
- [22] Tamura Y, Izumiyama-Shimomura N, Kimbara Y, et al. β -cell telomere attrition in diabetes: inverse correlation between HbA1c and telomere length[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(8): 2771–2777.
- [23] Carracedo J, Buendia P, Merino A, et al. Klotho modulates the stress response in human senescent endothelial cells[J]. *Mech Ageing Dev*, 2012, 133(11–12): 647–654.
- [24] Shardell M, Kalyani R, Semba RD, et al. Plasma Klotho, adiposity, and insulin resistance in older adults: findings from the inchiati study[J]. *Innovation in Aging*, 2017, 1(s1): 8.
- [25] Utsugi T, Ohno T, Ohyama Y, et al. Decreased insulin production and increased insulin sensitivity in the Klotho mutant mouse, a novel animal model for human aging[J]. *Metabolism*, 2000, 49(9): 1118–1123.
- [26] Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho[J]. *Science*, 2005, 309(5742): 1829–1833.
- [27] Lorenzi O, Veyrat-Durebex C, Wollheim CB, et al. Evidence against a direct role of Klotho in insulin resistance[J]. *Pflugers Arch*, 2010, 459(3): 465–473.
- [28] Tomino Y, Gohda T. The prevalence and management of diabetic nephropathy in Asia[J]. *Kidney Dis(Basel)*, 2015, 1(1): 52–60.
- [29] Asai O, Nakatani K, Tanaka T, et al. Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(6): 539–547.
- [30] Kim MK, Chung SW, Kim DH, et al. Modulation of age-related NF- κ B activation by dietary zingerone via MAPK pathway[J]. *Exp Gerontol*, 2010, 45(6): 419–426.
- [31] Kanwar YS, Sun L, Xie P, et al. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy[J]. *Annu Rev Pathol*, 2011(6): 395–423.
- [32] Lieberthal W, Levine JS. Mammalian target of rapamycin and the kidney. II. Pathophysiology and therapeutic implications[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303(2): 180–191.
- [33] Lin Y, Kuro-o M, Sun Z. Genetic deficiency of anti-aging gene klotho exacerbates early nephropathy in STZ-induced diabetes in male mice[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(10): 3855–3863.
- [34] Deng M, Luo Y, Li Y, et al. Klotho gene delivery ameliorates renal hypertrophy and fibrosis in streptozotocin-induced diabetic rats by suppressing the Rho-associated coiled-coil kinase signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 45–54.
- [35] Li Y, Hu F, Xue M, et al. Klotho down-regulates Egr-1 by inhibiting TGF- β 1/Smad3 signaling in high glucose treated human mesangial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487(2): 216–222.
- [36] Huang JS, Chuang CT, Liu MH, et al. Klotho attenuates high glucose-induced fibronectin and cell hypertrophy via the ERK1/2-p38 kinase signaling pathway in renal interstitial fibroblasts[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 390(1–2): 45–53.
- [37] Chen B, Zhao Q, Ni R, et al. Inhibition of calpain reduces oxidative stress and attenuates endothelial dysfunction in diabetes[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2014(13): 88.
- [38] Stalker TJ, Skvarka CB, Scallia R. A novel role for calpains in the endothelial dysfunction of hyperglycemia[J]. *FASEB J*, 2003, 17(11): 1511–1513.
- [39] Kadoya H, Satoh M, Haruna Y, et al. Klotho attenuates renal hypertrophy and glomerular injury in Ins2Akita diabetic mice[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2016, 20(5): 671–678.
- [40] Zhao Y, Banerjee S, Dey N, et al. Klotho depletion contributes to increased inflammation in kidney of the db/db mouse model of diabetes via RelA (serine) 536 phosphorylation[J]. *Diabetes*, 2011, 60(7): 1907–1916.
- [41] Vladu ID, Cana D, Vaduva C, et al. Chronic kidney disease-mineral bone disorder in diabetes mellitus patients[J]. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition & Metabolic Diseases*, 2012, 19(1): 89–98.
- [42] Lee CT, Lien YH, Lai LW, et al. Increased renal calcium and magnesium transporter abundance in streptozotocin-induced diabetes mellitus[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(10): 1786–1791.
- [43] Asai O, Nakatani K, Tanaka T, et al. Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(6): 539–547.
- [44] Bian A, Xing C, Hu MC. Alpha Klotho and phosphate homeostasis[J]. *J Endocrinol Invest*, 2014, 37(11): 1121–1126.
- [45] Olauson H. The role of FGF23/Klotho in mineral metabolism and chronic kidney disease[J/OL]. (2013–08–30) [2017–01–01]. <https://openarchive.ki.se/xmlui/handle/10616/41595>.
- [46] Nakhoul N. The non mineral axis Klotho-vitamin d in diabetic nephropathy: review[J]. *Diabetes Metab*, 2015, 6: 563.
- [47] Wu C, Wang Q, Lü C, et al. The changes of serum sKlotho and NGAL levels and their correlation in type 2 diabetes mellitus patients with different stages of urinary albumin[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 106(2): 343–350.
- [48] Lee EY, Kim SS, Lee JS, et al. Soluble α -Klotho as a novel biomarker in the early stage of nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e102984.
- [49] Kim SS, Song SH, Kim JJ, et al. Decreased plasma α -Klotho predict progression of nephropathy with type 2 diabetic patients[J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(5): 887–892.
- [50] Hata J, Arima H, Rothwell PM, et al. Effects of visit-to-visit variability in systolic blood pressure on macrovascular and microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus: the ADVANCE trial[J]. *Circulation*, 2013, 128(12): 1325–1334.
- [51] Furukawa S, Sakai T, Niiya T, et al. Microvascular complications and prevalence of nocturia in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: the dogo study[J]. *Urology*, 2016, 93: 147–151.
- [52] Van Ark J, Hammes HP, van Dijk MC, et al. Circulating alpha-Klotho levels are not disturbed in patients with type 2 diabetes with and without macrovascular disease in the absence of nephropathy[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12: 116.
- [53] Liu JJ, Liu S, Morgenthaler NG, et al. Association of plasma soluble α -Klotho with pro-endothelin-1 in patients with type 2 diabetes[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 233(2): 415–418.
- [54] Ergul A. Endothelin-1 and diabetic complications: focus on the vasculature[J]. *Pharmacol Res*, 2011, 63(6): 477–482.

(责任编辑:唐秋姗)