

Klotho 在心力衰竭中作用的研究进展

柴亚如¹, 邓玉婷², 戴红艳², 管军^{3*}

1. 潍坊医学院 临床医学院, 山东 潍坊 261000; 2. 保健心内科; 3. 心内科, 山东 青岛 266000

摘要: Klotho 是一种抗衰老蛋白, 可分为全长跨膜型 Klotho、可溶性 Klotho 和分泌型 Klotho 3 种类型, 其与氧化应激、炎症反应、心肌肥厚与纤维化、自噬、线粒体功能障碍等联系密切, 参与抑制了心力衰竭的发生发展, 有望为心力衰竭的治疗提供新的靶点和方向。

关键词: Klotho; 抗衰老蛋白; 心力衰竭

中图分类号: R542 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.06.0998

Research progress on the role of Klotho in heart failure

CHAI Yaru¹, DENG Yuting², DAI Hongyan², GUAN Jun^{3*}

1. School of Clinical Medicine, Weifang Medical College, Weifang 261000; 2. Department of Healthcare Cardiology;
3. Department of Cardiology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, China

Abstract: Klotho is an anti-aging protein and can be divided into three types: full-length transmembrane Klotho, soluble Klotho and secreted Klotho. Many studies have shown that Klotho is closely related to oxidative stress, inflammatory response, myocardial hypertrophy, fibrosis, autophagy, and mitochondrial dysfunction. It is also involved in the occurrence and development of heart failure. It is expected to provide a new target and direction for the treatment of heart failure.

Key words: Klotho; anti-aging protein; heart failure

心力衰竭(heart failure, HF)是由结构性和/或功能性心脏异常引起, 导致心室充盈和/或射血功能障碍的一组临床综合征, 据估计全世界有 6 430 万人患有 HF, 在中国 35 岁以上人群中估计有 890 万心衰患者。尽管近年来在治疗 HF 方面取得了显著成就, 但是 HF 患者的死亡率仍然很高, 因此探索新途径治疗 HF 尤为迫切。Klotho 是一种抗衰老蛋白, 与 HF 的关系近年来受到广泛的重视, 其抗衰老、抗氧化应激、抗炎、抗凋亡等生物学功能参与了

心脏保护作用, 本文对 Klotho 在 HF 中的研究进展作一概述, 为 HF 的治疗靶点提供依据。

1 Klotho 概述

Klotho 是由日本学者 Kuro 等于 1997 年在研究自发性高血压大鼠时发现的与衰老相关的基因, 人类和小鼠均位于染色体 13q12, 长度约 50 kb, 包括 5 个外显子和 4 个内含子, 主要在肾远端小管、大脑脉络丛表达, 在垂体、胎盘、骨骼肌、膀胱、主动脉、

收稿日期: 2022-04-29 修回日期: 2022-07-25

基金项目: 青岛市科技惠民示范引导专项(21-1-4-rkjk-9-nsh); 青岛市医疗卫生优秀学科带头人项目(青卫科教字[2019]9号)

* 通信作者 (corresponding author): guanjun@medmail.com.cn

胰腺、睾丸、卵巢、结肠、甲状腺低表达,近期实验研究发现人和大鼠心肌组织中高表达^[1]。已经鉴定出三种可能具有不同功能的 Klotho 蛋白(通常称为 α -Klotho)类型:全长跨膜型 Klotho (130 ku),可溶性 Klotho (65/130 ku)和分泌型 Klotho (65 ku)^[2]。全长跨膜型 Klotho 蛋白主要表达在肾脏、小肠、胎盘等脏器,作为远端小管中纤维细胞生长因子-23 的共受体,调节钠-磷酸盐共转运蛋白活性和肾脏中磷酸盐的重吸收,其胞外结构域可被解整合素金属蛋白酶 10 (a disintegrin and metalloproteinase 10, ADAM10)、ADAM17 和 β 位淀粉样前体蛋白裂解酶 1 (BACE1) 剪切,产生 65 ku 和 130 ku 的可溶性 Klotho,能够在血液、尿液和脑脊液检测到^[3-4],通过抗氧化、抗凋亡、抗衰老、抗心肌纤维化等机制对心血管系统产生保护作用^[1]。此外,小鼠和人类 Klotho 编码一个短形式的分泌型 Klotho 蛋白(65 ku),这是由于 Klotho mRNA 选择性剪接产生的,其生物学作用尚不清楚。

2 Klotho 在心力衰竭发生发展中的作用

2.1 Klotho 与氧化应激

氧化应激在广泛的病理条件下参与 HF 的发生和发展。在心肌细胞中,抗氧化防御主要内源性成分包括抗氧化酶[如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)]和抗氧化辅助因子,有效控制活性氧(reactive oxygen species, ROS)可作为预防 HF 的有效途径^[5]。Klotho 可以通过提高过氧化氢酶和超氧化物歧化酶等抗氧化基因的表达,在一定程度上能够逆转异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的大鼠心肌损伤并且显著减少 ROS 的产生,因此推测 Klotho 的心脏保护作用可能与氧化应激的减弱有关^[6]。在阿霉素(doxorubicin, Dox)诱导大鼠心功能不全模型中, Klotho 蛋白同样能减弱 Dox 诱导的氧化应激和心脏凋亡,改善心脏收缩和舒张功能障碍,并进一步探讨了可能的分子机制, Klotho 通过激活丝裂原活化的蛋白激酶/核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)通路发挥其心脏保护作用,减少 ROS 介导的细胞凋亡^[7]。GR 是一种黄素蛋白氧化还原酶,对氧化应激具有保护作用。Klotho 缺乏症能够降低 GR 的表达和活性,外源性

补充分泌型 Klotho 能够通过抑制 Kelch 样环氧丙烷相关蛋白-1(Keap1)并激活 Nrf2 上调 GR 来防止心脏老化,减轻老年小鼠和 Klotho 缺陷小鼠的衰老相关心力衰竭^[8]。因此, Klotho 可减少 ROS 的产生,参与氧化应激损伤条件下的心肌保护,通过补充外源性 Klotho 是一种很有前途的治疗 HF 的策略。

2.2 Klotho 与炎症反应

炎症反应是导致 HF 发展的主要病理生理因素,对心脏的收缩及舒张功能产生不利影响。可溶性 Klotho 与炎症反应之间存在双向关系,一方面,炎症反应可通过转录和表观遗传机制降低 Klotho 的表达,另一方面, Klotho 具有强大的抗炎作用。热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)可以调节炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β),抑制炎症反应,减少与衰老相关的慢性炎症反应引起的组织损伤。心肌 HSP70 水平与 Klotho 水平呈正相关,内毒素血症可降低心肌 Klotho 水平,而重组 Klotho 蛋白可上调老龄内毒素血症小鼠心肌 HSP70 水平,抑制经典核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)活化,降低 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平,改善心功能^[9],这表明 Klotho 具有改善老年人内毒素性心功能障碍的潜力。除此之外,巨噬细胞被认为广泛参与炎症反应过程,在人类心脏病中,巨噬细胞的募集和激活与心肌细胞损伤的严重程度和心脏病的进展密切相关。Klotho 可通过下调 TLR4/MyD88/NF- κ B 途径及阻断 NF- κ B 通路,促进 M2 型巨噬细胞极化,降低包括心肌细胞和巨噬细胞在内的整个心脏的炎症反应,减轻 HF^[10-11]。补充血清可溶性 Klotho 可以防止老年心脏过度氧化应激、炎症反应、细胞凋亡和心功能不全。基于上述研究, Klotho 可以通过抑制炎症反应发挥心脏保护作用,改善心功能。

2.3 Klotho 与心肌肥厚及纤维化

心肌重构是 HF 发生发展的病理生理基础,常伴有心肌肥厚、纤维化、功能障碍。病理性心肌肥厚是心脏对各种内部或外部压力作出反应的复杂过程,包括心肌肥大、间质纤维化增加、细胞死亡和心功能障碍,最终发展为 HF。Ca²⁺水平升高在心肌肥厚中起关键作用,可溶性 Klotho 通过抑制心脏中异常的钙信号传导以减轻心肌肥大、纤维化和心脏毒

性。其机制可能与以下方面有关:1)循环中的 α Klotho与胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF1)受体相互作用,通过阻断磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)依赖性的瞬时受体电位通道6(transient receptor potential channel 6, TRPC6)通道的胞吐,抑制心肌细胞中的TRPC6通道介导的心脏异常 Ca^{2+} 信号,保护心脏免受应激诱导的心肌肥厚和重构^[12]。2)通过上调钠钾三磷酸腺苷酶的表达同时抑制反向型钠/钙交换体调控心肌细胞内 Ca^{2+} 来改善ISO诱导的心肌肥厚^[13]。

心肌纤维化是导致HF的另一重要病理生理过程,多项研究表明Klotho具有抗心肌纤维化的作用。研究发现给予Klotho在体内体外均可减轻ISO诱导的心肌纤维化和细胞凋亡^[14]。Klotho的抗纤维化作用包括:1)Klotho通过下调转化生长因子 β 1-miR-132轴来预防血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)诱导的小鼠心脏重塑及功能障碍,抑制Ang II诱导的心肌细胞肥大,抑制心肌组织的纤维化^[15]。2)可溶性Klotho主要通过整合素 β 1结合,抑制细胞外信号调节激酶1/2途径来改善糖尿病心肌病心肌纤维化,减轻左室舒张功能障碍^[16]。3)Klotho通过与减少TRPC6、心肌 β -肌球蛋白重链、 α -平滑肌肌动蛋白的表达以及增加成纤维细胞生长因子21的表达,减轻心肌纤维化以及慢性肾脏病所致的心功能不全^[17]。以上结果均说明Klotho通过多种机制减轻心肌细胞肥厚以及心肌纤维化,改善心室重构,可作为改善心功能重要决定因素。

2.4 Klotho与自噬

自噬是一种主要的细胞内蛋白质降解机制,在HF的发展过程中起着病理作用,而mTOR和Beclin-1是自噬的两个主要调节因子^[18]。近年来,发现Klotho可作为一种潜在的自噬调控因子,在不同生理或病理条件下通过调控mTOR和Beclin-1表达恢复自噬水平^[18]。在探讨Klotho是否参与了心脏老化和寿命的研究中,Klotho亚型突变的小鼠更虚弱、更瘦,出生150d后100%死亡,其原因可能与Klotho缺乏会损害心脏功能,导致心肌肥大有关。其次,Klotho缺乏降低了小鼠心脏的自噬功能,增加了细胞凋亡的活性。而通过外源性补充Klotho可

减轻心肌细胞老化,逆转D-半乳糖引起的自噬和凋亡活性的变化^[19]。这些结果表明Klotho可能通过增加自噬和减少细胞凋亡来延缓心脏衰老,但具体分子机制仍需要进一步研究。

2.5 Klotho与线粒体功能障碍

线粒体是心肌细胞产生能量所必需的,线粒体的功能障碍参与了HF的发展,线粒体动力相关蛋白1(dynammin-related protein, Drp1)对线粒体分裂和自噬是必不可少的,Drp1会引发线粒体和心脏功能障碍^[20]。在Dox诱导的心脏疾病模型中,线粒体宽度显著增加,线粒体长度显著缩短,线粒体长宽比明显降低。当Klotho治疗小鼠时,线粒体宽度和线粒体长宽比均显著增加,外源性Klotho可通过下调Drp1减少细胞凋亡改善Dox诱导的心功能障碍和心肌损伤^[21]。该研究为Klotho在Dox诱导的心肌病中抗线粒体分裂和炎症反应的作用提供了新的证据,Klotho可能成为未来治疗心功能障碍的潜在治疗靶点。

3 Klotho与心力衰竭的临床研究

在一项涉及美国13765名中老年人的横断面研究中,血清Klotho与充血性心力衰竭(congestive heart failure, CHF)独立相关,血清Klotho浓度较低的中老年人群CHF患病率较高,且血清Klotho浓度与CHF呈线性负相关。该研究还发现,肾功能在Klotho和CHF患病率之间发挥重要中介效应,这可能为研究Klotho水平对CHF的积极作用的潜在机制提供线索^[22]。钠葡萄糖共转运蛋白2抑制剂(sodium glucose co-transporter-2 inhibitors, SGLT2i)作为一种新型口服降糖药,能够有效缓解心室重构及改善心脏功能,降低HF的风险^[23],其机制与抗氧化和抗炎作用、早期利钠、维持电解质平衡、抑制心肌肥大和纤维化等密切相关。而Klotho也具有类似作用,因此有人推断SGLT2i和抗衰老蛋白Klotho在改善糖尿病和心肾疾病方面存在联系,揭示SGLT2i可能通过上调Klotho治疗心肾综合征,改善心功能^[24]。此外,且近期有临床试验表明 α -Klotho是HF患者治疗反应性的新预测因子,这更加揭示了Klotho在HF的重要作用^[25]。

4 问题与展望

综上所述,Klotho通过氧化应激、炎性反应、心

肌肥厚与纤维化、自噬、线粒体功能障碍等多重效应广泛参与 HF 的病理生理机制,可能是心血管保护的一个关键因素,但是也存在一些待解决的问题,例如血清中可溶性 Klotho 存在两种形式,是否对 HF 具有不同的作用机制以及如何区分两种不同形式的

Klotho 蛋白尚不明确。目前关于 Klotho 在 HF 中的作用和潜在机制仍未完全清楚,如何利用药物调控血清或心肌细胞中 Klotho 的表达以及能否通过外源性补充 Klotho 治疗 HF,这些或都将成为今后研究的重要方向。

参考文献:

- [1] Olejnik A, Krzywonos-Zawadzka A, Banaszekiewicz M, *et al.* Klotho protein contributes to cardioprotection during ischaemia/reperfusion injury [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 6448-6458.
- [2] Xu Z, Zheng S, Feng X, *et al.* Klotho gene improves oxidative stress injury after myocardial infarction [J] 2021, 21: 52. doi: 10.3892/etm.2020.9484.
- [3] Oishi H, Doi S, Nakashima A, *et al.* Klotho overexpression protects against renal aging along with suppression of transforming growth factor- β 1 signaling pathways [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2021, 321: F799-F811.
- [4] Akasaka-Manyu K, Manyu H, Nadanaka S, *et al.* Decreased ADAM17 expression in the lungs of α -Klotho reduced mouse [J]. *J Biochem*, 2020, 167: 483-493.
- [5] Wang X, Zhang G, Dasgupta S, *et al.* ATF4 protects the heart from failure by antagonizing oxidative stress [J]. *Circ Res*, 2022, 131: 91-105.
- [6] Song S, Si LY. Klotho ameliorated isoproterenol-induced pathological changes in cardiomyocytes via the regulation of oxidative stress [J]. *Life Sci*, 2015, 135: 118-123.
- [7] Zhu H, Gao Y, Zhu S, *et al.* Klotho improves cardiac function by suppressing reactive oxygen species (ROS) mediated apoptosis by modulating Mapks/Nrf2 signaling in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 5283-5293.
- [8] Chen K, Wang S, Sun QW, *et al.* Klotho deficiency causes heart aging via impairing the Nrf2-GR pathway [J]. *Circ Res*, 2021, 128: 492-507.
- [9] 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: 15663-15676.
- [10] Lv J, Chen J, Wang M, *et al.* Klotho alleviates indoxyl sulfate-induced heart failure and kidney damage by promoting M2 macrophage polarization [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 9139-9150.
- [11] Wang Y, Wang K, Bao Y, *et al.* The serum soluble Klotho alleviates cardiac aging and regulates M2a/M2c macrophage polarization via inhibiting TLR4/Myd88/NF- κ B pathway [J]. *Tissue Cell*, 2022, 76: 101812. doi: 10.1016/j.tice.2022.101812.
- [12] Xie J, Cha SK, An SW, *et al.* Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 1238. doi: 10.1038/ncomms2240.
- [13] Tang G, Shen Y, Gao P, *et al.* Klotho attenuates isoproterenol-induced hypertrophic response in H9C2 cells by activating Na(+)/K(+)-ATPase and inhibiting the reverse mode of Na(+)/Ca(2+)-exchanger [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2018, 54: 250-256.
- [14] Chen WY. Soluble alpha-Klotho alleviates cardiac fibrosis without altering cardiomyocytes renewal [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 2186. doi: 10.3390/ijms21062186.
- [15] Ding J, Tang Q, Luo B, *et al.* Klotho inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy, fibrosis, and dysfunction in mice through suppression of transforming growth factor- β 1 signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 859: 172549. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172549.
- [16] Li JM, Chen FF, Li GH, *et al.* Soluble Klotho-integrin β 1/ERK1/2 pathway ameliorates myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy [J]. *FEBS J*, 2021, 35: e21960. doi: 10.1096/fj.202100952R.
- [17] Suassuna PGA, Cherem PM, de Castro BB, *et al.* α Klotho attenuates cardiac hypertrophy and increases myocardial fibroblast growth factor 21 expression in uremic rats [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2020, 245: 66-78.
- [18] Gao G, Chen W, Yan M, *et al.* Rapamycin regulates the balance between cardiomyocyte apoptosis and autophagy in chronic heart failure by inhibiting mTOR signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45: 195-209.
- [19] Liao LZ, Chen ZC, Wang SS, *et al.* Klotho deficiency causes cardiac ageing by impairing autophagic and activating apoptotic activity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 911: 174559. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174559.
- [20] Chang YW, Song ZH, Chen CC. FAK regulates cardiomyocyte mitochondrial fission and function through Drp1

- [J]. FEBS J, 2022, 289: 1897-1910.
- [21] Zhuang X, Sun X, Zhou H, *et al.* Klotho attenuated Doxorubicin-induced cardiomyopathy by alleviating Dynamamin-related protein 1-mediated mitochondrial dysfunction[J]. Meth Ageing Dev, 2021, 195: 111442. doi: 10.1016/j.mad.2021.111442.
- [22] Zhu X, Lu X, Yin T, *et al.* Renal function mediates the association between Klotho and congestive heart failure among middle-aged and older individuals[J] Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 802287. doi: 10.3389/fcvm.2022.802287.
- [23] 张志敏, 苟丽沙, 马丽群, 等. 达格列净降低心力衰竭大鼠心肌内质网应激并缓解左室重构.[J]. 基础医学与临床, 2021, 41: 1742-1748.
- [24] Kale A, Sankrityayan H, Anders HJ, *et al.* Klotho: A possible mechanism of action of SGLT2 inhibitors preventing episodes of acute kidney injury and cardiorenal complications of diabetes[J]. Drug Discov Today, 2021, 26: 1963-1971.
- [25] Taneike M, Nishida M, Nakanishi K, *et al.* Alpha-Klotho is a novel predictor of treatment responsiveness in patients with heart failure[J]. Sci Rep, 2021, 11: 2058. doi: 10.1038/s41598-021-81517-9.

