

## Klotho 在糖尿病肾脏疾病中的抗纤维化作用

李扬 薛萌 胡芳 关美萍 薛耀明

**【摘要】** Klotho 是一种抗衰老蛋白,主要在肾远曲小管表达。近年研究发现,糖尿病肾脏病患者早期即出现血清Klotho蛋白水平下降,肾组织内Klotho表达水平亦明显下降,且随着糖尿病肾脏疾病的进展,Klotho蛋白水平进一步降低。在链脲佐菌素诱导的糖尿病动物模型或体外高糖培养的细胞研究中证实,Klotho通过抗氧化应激、抑制转化生长因子- $\beta$ 信号通路、抑制Wnt信号通路、抗炎及抗凋亡等作用发挥抗肾脏纤维化的作用。因此,Klotho蛋白与糖尿病肾脏疾病的发生、发展密切相关。

**【关键词】** Klotho;糖尿病肾脏疾病;肾脏纤维化

**基金项目:**国家自然科学基金(81570724)

**Anti-fibrotic effects of Klotho in diabetic kidney disease** Li Yang, Xue Meng, Hu Fang, Guan Meiping, Xue Yaoming. Department of Endocrinology and Metabolism, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Xue Yaoming, Email: xueyaoming999@126.com

**【Abstract】** Klotho is an anti-aging protein, highly expressed in the renal distal convoluted tubules. Recent studies reveal that plasma Klotho decreases in the early stage of patients with diabetic kidney disease (DKD), accompanied by decreased expression of Klotho in kidney. Moreover, protein level of Klotho further decreases with the progression of DKD. In streptozotocin induced diabetic animal models or high glucose cultured cell lines *in vitro*, it has been demonstrated that Klotho prevented renal fibrosis by antioxidation, inhibition of transforming growth factor- $\beta$  and Wnt signaling, anti-inflammation and anti-apoptosis. Therefore, Klotho is intimately associated with the occurrence and development of DKD.

**【Key words】** Klotho; Diabetic kidney disease; Renal fibrosis

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81570724)

糖尿病肾脏疾病(DKD)是糖尿病主要微血管并发症之一,也是终末期肾病的首要病因<sup>[1-2]</sup>。诸多研究表明,多元醇通路的激活、肾素-血管紧张素(Ang)-醛固酮系统(RAAS)的激活、氧化应激、炎症反应、转化生长因子(TGF)- $\beta$ 及Wnt信号通路的激活等都参与了DKD的发生、发展。近年的研究显示,RAAS抑制剂也无法逆转或明显改善DKD的病理改变<sup>[3]</sup>。最近的BEACON研究也未从拮抗氧化应激和炎症反应方面获得防治DKD的证据<sup>[4]</sup>。因此,深入探讨DKD的发病机制,寻找调控DKD进展的关键靶点,对于防治DKD进展具有十分重要的意义。近年来的研究显示,抗衰老基因Klotho与DKD密切相关,本文对此作一综述。

### 1 Klotho 概述

#### 1.1 Klotho 基因及蛋白

Klotho 基因是 1997 年

Kuro-o等<sup>[5]</sup>在研究盐敏感性高血压转基因小鼠过程中发现的一种衰老相关基因,并采用古希腊神话中命运三女神之一Klotho命名。Klotho基因5'侧翼区插入突变的小鼠在出生后2周内生长、发育正常,3~4周后即出现衰老相关表型,且大多在出生后8~9周死亡,平均寿命为60.7 d,相反,Klotho转基因小鼠衰老减缓,寿命比野生型小鼠延长20%~30%<sup>[5-7]</sup>。Klotho基因在人类、小鼠及大鼠中具有高度保守性,人类和小鼠的Klotho蛋白98%氨基酸序列相同。人Klotho基因定位于染色体13q12,包含5个外显子和4个内含子,编码I型单次跨膜糖蛋白,即膜结合型Klotho,由1 012个氨基酸组成,相对分子质量为130 000,分为细胞内段、跨膜区及细胞外段3部分结构<sup>[8]</sup>。细胞内段较短,由10个氨基酸组成,无生物学功能。细胞外段由两个内部重复序列KL1和KL2组成,连接KL1和KL2的4个基本氨基酸序列赖氨酸-赖氨酸-精氨酸-赖氨酸,是Klotho蛋白细胞外段酶解位点,可被基质金属蛋白酶10和基质金属蛋白酶17酶切后形成可溶型Klotho蛋白<sup>[9]</sup>。若

在小鼠第 3 个外显子与第 4 个外显子之间插入末尾 2 个核苷酸为 TA 的序列,与第 4 个外显子的第一个核苷酸 G 组成终止密码子 TAG,选择性转录终止于外显子 3,则编码分泌型 Klotho 蛋白<sup>[8]</sup>。为与后来发现的另外两种 Klotho 蛋白家族的成员即  $\beta$ -Klotho、 $\gamma$ -Klotho 相区别, Klotho 也被称为  $\alpha$ -klotho, 本文所指的 Klotho 均为  $\alpha$ -Klotho。

**1.2 Klotho 的表达及功能** Klotho 在肾远曲小管及脑的脉络丛呈高表达,在垂体、甲状旁腺、胰腺、卵巢、睾丸、胎盘、骨骼肌、膀胱、直肠、内耳、乳腺细胞也有少量表达<sup>[10-13]</sup>。膜结合型 Klotho 蛋白作为成纤维细胞生长因子 (FGF) 23 的共受体,介导 FGF23 的生物学活性,调节体内钙、磷及维生素 D<sub>3</sub> 的代谢<sup>[14]</sup>。可溶型和分泌型 Klotho 蛋白主要释放到血、尿、脑脊液等体液中,作为内分泌、自分泌、旁分泌激素作用于靶细胞发挥作用,具有调控离子通道、调节能量代谢、调节生长因子,如胰岛素及胰岛素样生长因子 (IGF)-1、抑制 TGF- $\beta$  号通路及 Wnt 信号通路、抗氧化应激、抗炎、拮抗 RAAS 等作用<sup>[9, 15]</sup>。 $\beta$ -Klotho 也是 I 型单次跨膜蛋白,与 Klotho 具有同源性,主要在肝脏及白色脂肪表达,其次是胃肠道、脾脏、肾脏<sup>[16-17]</sup>。 $\beta$ -Klotho 通过与 FGF 受体形成复合物,主要转导 FGF21 和 FGF19 信号,调节胆汁的产生和能量代谢<sup>[18]</sup>。 $\gamma$ -Klotho 是较短的 I 型单次跨膜蛋白,主要由胞外段 KL1 和较短的胞内段组成,它主要表达于棕色脂肪、眼部和皮肤,其具体的功能尚不清楚<sup>[19]</sup>。

Lindberg 等<sup>[20]</sup>通过选择性敲除肾脏 Klotho 基因与全身性敲除 Klotho 基因小鼠模型比较研究发现,二者的临床表型非常相似,并且肾脏发生明显的纤维化,缺乏正常形态的肾小管,再次验证了肾脏是体内 Klotho 来源的主要器官, Klotho 是肾脏分泌的又一种激素,也是维持正常肾脏功能的重要因子。近年研究发现, Klotho 与 DKD 的肾脏纤维化密切相关,是较早出现的生物学标志物之一,且随着 DKD 的进展,血清 Klotho 水平逐渐降低。一项前瞻性研究显示,与正常对照组相比,早期 DKD 患者 (估算的肾小球滤过率  $\geq 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ , 血清肌酐  $< 1.2 \text{ mg/dl}$ ) 血清及尿中 Klotho 水平出现一过性代偿性升高<sup>[21]</sup>。但随着病程的进展,代偿性升高的血清 Klotho 水平很快出现下降,且其下降幅度与肾小球滤过率呈负相关,因此,血清 Klotho 水平降低是 DKD 早期进展的重要标志<sup>[22]</sup>。Klotho 基因缺陷可导致链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病小鼠肾损害加剧,过表达 Klotho 可改善糖尿病小鼠模型的肾脏纤维

化<sup>[23]</sup>。Deng 等<sup>[24]</sup>在 STZ 诱导的大鼠 DKD 模型上发现, DKD 大鼠肾组织内 Klotho 表达被显著抑制,而过表达 Klotho 可预防肾脏肥大和肾纤维化,减少肾胶原纤维产生。

## 2 Klotho 抑制 DKD 进展的机制

**2.1 抗氧化应激** 糖尿病患者体内普遍存在氧化应激状态,氧化应激进一步加重肾脏损害并提高心血管事件的发生率<sup>[25]</sup>。研究表明,与野生型小鼠相比, Klotho 转基因小鼠线粒体超氧化物歧化酶 (SOD) 2 表达升高及 FOXO 磷酸化降低,用分泌型 Klotho 处理体外培养的多种细胞发现, Klotho 通过抑制 IGF-1 信号转导通路,减少 FOXO 的磷酸化,促进 FOXO 向核内转运,直接与 SOD2 启动子结合促进其表达,而 SOD2 可清除活性氧簇和增强细胞对氧化应激的耐受性<sup>[26]</sup>。Klotho 还可以通过增加 SOD2 和锰超氧化物歧化酶的含量,进而抑制氧化应激的作用<sup>[27]</sup>。由 STZ 诱导的糖尿病大鼠肾小管 Klotho 表达明显降低,而胰岛素和根皮苷 (phloridzin) 治疗能改善血糖并使肾脏 Klotho 表达升高,具有抗氧化作用的肽制剂 (tiron) 可以不依赖血糖控制而上调 Klotho 表达;体外研究也证实,高糖和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 明显抑制体外培养的马-达二氏犬肾 (MDCK) 细胞 Klotho 表达,抗氧化剂能上调高糖刺激的 Klotho 表达,提示 Klotho 可能通过拮抗氧化应激发挥抗肾脏纤维化的作用<sup>[28]</sup>。

**2.2 抑制 TGF- $\beta$  信号通路** TGF- $\beta$  信号通路的激活是细胞外基质沉积、肾小管上皮转分化、炎症反应、纤维疤痕形成的重要原因之一。TGF- $\beta_1$  呈剂量-时间依赖性地抑制近端肾小管上皮细胞株 HKC-8 的 Klotho 表达,而 Klotho 能竞争性地与 II 型 TGF- $\beta$  受体结合,从而抑制 TGF- $\beta_1$  下游信号通路蛋白 Smad2/3 的激活<sup>[29]</sup>。在应用 STZ 诱导 6~8 周龄先天性 Klotho 基因缺失雄性小鼠 DKD 模型的研究中发现,与野生型组相比,模型小鼠的尿白蛋白水平较高,肾小球系膜基质沉积较重、肾小球肥大明显,磷酸化的 Smad2 水平明显升高,提示先天性 Klotho 基因缺失可使 TGF- $\beta_1$ /Smad2 信号通路活性增强,加速早期 DKD 的肾脏纤维化进展<sup>[23]</sup>。外源性给予 Klotho 蛋白能拮抗高糖诱导下肾间质成纤维细胞中 TGF- $\beta$ 、细胞外信号调节激酶 1/2、p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路的激活<sup>[30]</sup>。

**2.3 抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号** Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在各种原因包括糖尿病导致的肾脏纤维化进展中发挥重要的作用。Zhou 等<sup>[31]</sup>研究报道, Klotho 可能是内源性 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号的天然拮抗剂, Klotho 减少时对信号通路的抑制减弱,导致肾损伤

加重,体内高表达Klotho可降低肾 $\beta$ -catenin蛋白的活性,从而改善肾脏纤维化。在STZ诱导的糖尿病小鼠成模后4周,尾静脉注射移植脂肪间充质干细胞(ADMSCs)8周后,与溶剂组处理的糖尿病小鼠相比,ADMSCs移植组小鼠肾组织损伤较轻,肾组织内Klotho表达水平升高,而Wnt1、Wnt3a、Snail表达降低, $\beta$ -catenin活性降低;在体外将大鼠肾小管上皮细胞(NRK-52E)与ADMSCs共培养后,ADMSCs可抑制高糖诱导的NRK-52E中Klotho蛋白的下调,瞬时转染Klotho siRNA可明显上调NRK-52E中Wnt1、Wnt3a、Snail的表达,提高 $\beta$ -catenin的活性;该研究表明,ADMSCs通过促进Klotho表达,改善肾脏纤维化,且该作用是通过Klotho抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路实现<sup>[32]</sup>。

**2.4 抗炎、抗凋亡** db/db 小鼠肾内Klotho表达水平明显降低,体外原代培养的小鼠肾小管上皮细胞也观察到同样的结果,并且给予外源性分泌型Klotho或过表达膜结合型Klotho,明显抑制核因子- $\kappa$ B的激活及肿瘤坏死因子- $\alpha$ 诱导的相关炎症因子的产生,该研究结果提示,Klotho作为抗炎调节因子,可以通过抑制RelA激活区Ser536的磷酸化,负性调节核因子- $\kappa$ B相关的炎症反应蛋白<sup>[33]</sup>。在肾小球肾炎模型(ICGN)小鼠,Bax蛋白表达升高,Bcl-2蛋白表达降低,而在Klotho转基因ICGN(ICGN/kITG)小鼠,Bax、Bcl-2蛋白表达接近于基线水平,说明Klotho可通过下调Bax和上调Bcl-2发挥抗凋亡作用<sup>[34]</sup>。与对照组相比,STZ诱导的糖尿病小鼠肾皮质中Bax表达明显升高,Bcl-2和Klotho表达降低,而ADMSCs移植后的STZ诱导糖尿病小鼠肾组织中Bax与Bcl-2的表达却都接近正常对照小鼠的水平,而Klotho表达较溶剂处理组糖尿病小鼠表达明显升高;在体外瞬时转染Klotho siRNA可进一步上调高糖诱导的NRK-52E细胞中Bax的表达,进一步下调Bcl-2的表达<sup>[32]</sup>。该研究表明,ADMSCs通过促进Klotho表达,进而抑制细胞凋亡,发挥抗肾脏纤维化的作用。

**2.5 拮抗 RAAS** 糖尿病患者高血糖和血流动力学紊乱协同作用激活局部的RAAS,肾素和Ang II通过升高肾小球内压、刺激细胞增殖及细胞外基质合成等多种途径促进DKD的进展<sup>[35-36]</sup>。动物实验证实,Ang II可减少肾脏Klotho mRNA及蛋白的表达,该作用可被Ang I型受体拮抗剂反转,而Klotho基因过表达后,可阻断Ang II引起的肾脏损害,该作用与阻断Ang II所致的高血压无关,证明Klotho蛋白与Ang II之间存在着互相拮抗的关系<sup>[37]</sup>。另有研究观

察到,Ang II下调Klotho基因表达<sup>[38]</sup>。在体外培养的肾小管上皮细胞,Klotho呈剂量依赖性的阻断Wnt诱发的RAAS激活<sup>[31]</sup>。以上结果说明,Klotho可以通过抑制RAAS而发挥肾保护作用,因此推测在DKD进展中,Klotho也可能通过抑制RAAS的激活发挥抗肾脏纤维化作用。

### 3 Klotho 蛋白在 DKD 中的应用前景

目前,DKD早期临床诊断多依赖于尿白蛋白的检测,研究显示,尿白蛋白水平并不能准确的反映DKD的进展,无白蛋白尿患者亦可出现早期肾功能的进行性减退<sup>[39-40]</sup>。有研究已证实,早期DKD患者即可出现血清Klotho蛋白下降,且随着肾功能的恶化Klotho水平会进一步降低,血清Klotho水平与估算的肾小球滤过率呈正相关,因此认为,血清Klotho水平下降是DKD最早变化的生物标志物之一<sup>[21-24]</sup>。血清Klotho蛋白易于检测、可操作性强,因此有望成为早期诊断DKD的新型生物标志物。而且鉴于Klotho蛋白的肾脏保护作用,其在DKD治疗上同样也存在着巨大的前景。

### 参 考 文 献

- [1] Alsaad KO, Herzenberg AM, et al. Distinguishing diabetic nephropathy from other causes of glomerulosclerosis: an update [J]. J Clin Pathol, 2007, 60 (1): 18-26. DOI: 10.1136/jcp.2005.035592.
- [2] Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in chronic kidney disease in China [J]. N Engl J Med, 2016, 375 (9): 905-906. DOI: 10.1056/NEJMc1602469.
- [3] Pichaiwong W, Hudkins KL, Wietecha T, et al. Reversibility of structural and functional damage in a model of advanced diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24 (7): 1088-1102. DOI: 10.1681/ASN.2012050445.
- [4] Himmelfarb J, Tuttle KR. New therapies for diabetic kidney disease [J]. N Engl J Med, 2013, 369 (26): 2549-2550. DOI: 10.1056/NEJMe1313104.
- [5] 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. DOI: 10.1038/36285.
- [6] Masuda H, Chikuda H, Suga T, et al. Regulation of multiple ageing-like phenotypes by inducible klotho gene expression in klotho mutant mice [J]. Mech Ageing Dev, 2005, 126 (12): 1274-1283. DOI: 10.1016/j.mad.2005.07.007.
- [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. DOI: 10.1126/science.1112766.
- [8] 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.
- [9] Kim JH, Hwang KH, Park KS, et al. Biological role of anti-ageing protein Klotho [J]. J Lifestyle Med, 2015, 5 (1): 1-6. DOI: 10.15280/jlm.2015.5.1.1.

- [10] Kato Y, Arakawa E, Kinoshita S, et al. Establishment of the anti-Klotho monoclonal antibodies and detection of Klotho protein in kidneys[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 267(2):597-602. DOI:10.1006/bbrc.1999.2009.
- [11] Li SA, Watanabe M, Yamada H, et al. Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice[J]. *Cell Struct Funct*, 2004, 29(4):91-99.
- [12] Hu MC, Shi M, Zhang J, et al. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule[J]. *FASEB J*, 2010, 24(9):3438-3450. DOI:10.1096/fj.10-154765.
- [13] 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. DOI:10.1016/j.ijcard.2011.08.850.
- [14] 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. DOI:10.1146/annurev-physiol-030212-183727.
- [15] Golembiewska E, Stępniewska J, Kabat-Koperska J, et al. The role of Klotho protein in chronic kidney disease: studies in animals and humans[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2016, 17(8):821-826.
- [16] 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.
- [17] Yahata K, Mori K, Arai H, et al. Molecular cloning and expression of a novel klotho-related protein[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2000, 78(7):389-394.
- [18] Kurosu H, Choi M, Ogawa Y, et al. Tissue-specific expression of betaKlotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(37):26687-26695. DOI:10.1074/jbc.M704165200.
- [19] Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, et al. Research resource: comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse[J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(10):2050-2064. DOI:10.1210/me.2010-0142.
- [20] Lindberg K, Amin R, Moe OW, et al. The kidney is the principal organ mediating klotho effects[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(10):2169-2175. DOI:10.1681/ASN.2013111209.
- [21] Lee EY, Kim SS, Lee JS, et al. Soluble  $\alpha$ -klotho as a novel biomarker in the early stage of nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e102984. DOI:10.1371/journal.pone.0102984.
- [22] Kim SS, Song SH, Kim IJ, et al. Decreased plasma  $\alpha$ -Klotho predict progression of nephropathy with type 2 diabetic patients[J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(5):887-892. DOI:10.1016/j.jdiacomp.2016.03.006.
- [23] 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. DOI:10.1210/en.2013-1053.
- [24] 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. DOI:10.3892/mmr.2015.3367.
- [25] Rahimi-Madiseh M, Malekpour-Tehrani A, Bahmani M, et al. The research and development on the antioxidants in prevention of diabetic complications[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(9):825-831. DOI:10.1016/j.apjtm.2016.07.001.
- [26] 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. DOI:10.1074/jbc.M509039200.
- [27] Mitobe M, Yoshida T, Sugiura H, et al. Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2005, 101(2):e67-e74. DOI:10.1159/000086500.
- [28] Cheng MF, Chen LJ, Cheng JT. Decrease of Klotho in the kidney of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010:513853. DOI:10.1155/2010/513853.
- [29] Doi S, Zou Y, Togao O, et al. Klotho inhibits transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(10):8655-8665. DOI:10.1074/jbc.M110.174037.
- [30] 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. DOI:10.1016/j.mce.2014.04.001.
- [31] Zhou L, Mo H, Miao J, et al. Klotho ameliorates kidney injury and fibrosis and normalizes blood pressure by targeting the renin-angiotensin system[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(12):3211-3223. DOI:10.1016/j.ajpath.2015.08.004.
- [32] Ni W, Fang Y, Xie L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells transplantation alleviates renal injury in streptozotocin-induced diabetic nephropathy[J]. *J Histochem Cytochem*, 2015, 63(11):842-853. DOI:10.1369/0022155415599039.
- [33] 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. DOI:10.2337/db10-1262.
- [34] Haruna Y, Kashiwara N, Satoh M, et al. Amelioration of progressive renal injury by genetic manipulation of Klotho gene[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(7):2331-2336. DOI:10.1073/pnas.0611079104.
- [35] Cooper ME. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy[J]. *Diabetologia*, 2001, 44(11):1957-1972. DOI:10.1007/s001250100000.
- [36] Gnudi L. Cellular and molecular mechanisms of diabetic glomerulopathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(7):2642-2649. DOI:10.1093/ndt/gfs121.
- [37] Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T, et al. *In vivo* Klotho gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage[J]. *Hypertension*, 2002, 39(4):838-843.
- [38] Zhou Q, Lin S, Tang R, et al. Role of fosinopril and valsartan on klotho gene expression induced by angiotensin II in rat renal tubular epithelial cells[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2010, 33(3):186-192. DOI:10.1159/000316703.
- [39] Krolewski AS. Progressive renal decline: the new paradigm of diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2015, 38(6):954-962. DOI:10.2337/dc15-0184.
- [40] Krolewski AS, Niewczas MA, Skupien J, et al. Early progressive renal decline precedes the onset of microalbuminuria and its progression to macroalbuminuria[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(1):226-234. DOI:10.2337/dc13-0985.

(收稿日期:2017-03-20)