

◇ 综 述 ◇

# $\alpha$ -Klotho 蛋白在肾性继发性甲状旁腺功能亢进中的作用

闫军放<sup>1</sup> 综述 郝 丽<sup>1</sup> 张 凌<sup>2</sup> 审校

**摘要** 肾性继发性甲状旁腺功能亢进(SHPT)是慢性肾脏病最常见并发症之一,也是影响慢性肾脏病患者预后的重要因素,近年来成为研究热点。目前认为抗衰老蛋白 $\alpha$ -Klotho与SHPT关系密切。现综述近年来 $\alpha$ -Klotho对钙、磷代谢以及甲状旁腺激素的合成与分泌的影响,旨在进一步阐明 $\alpha$ -Klotho蛋白在肾性SHPT发生、发展中的作用,进而为临床诊

治提供科学依据。

**关键词** Klotho;慢性肾脏病;继发性甲状旁腺功能亢进

**中图分类号** R 582.1

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2014)06-0859-04

2014-02-17 接收

**基金项目:**安徽省高等学校省级自然科学基金项目(编号:KJ2013Z154)

**作者单位:**<sup>1</sup>安徽医科大学第二附属医院肾脏内科,合肥 230601

<sup>2</sup>中日友好医院肾脏内科,北京 100029

**作者简介:**闫军放,男,硕士研究生;

郝 丽,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: haoliqilin@163.com

张 凌,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: zhangling@medmail.com

继发性甲状旁腺功能亢进(secondary hyperparathyroidism, SHPT)是慢性肾脏病-矿物质和骨代谢紊乱(chronic kidney disease-mineral and bone disorder, CKD-MBD)最常见的一种表现形式,是慢性肾脏病最常见并发症之一。早期主要表现为血清生化指标的异常,如钙、磷代谢紊乱及甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)升高,临床症状多不明显。随着病情进展,逐渐发展成持续性或难治性SHPT<sup>[1]</sup>,除出现难以控制的钙磷代谢紊乱及PTH升高外,临床上还可表现为:①骨病:骨痛、骨折、急

[11] Heading R C, Mönnikes H, Tholen A, et al. Prediction of response to PPI therapy and factors influencing treatment outcome in patients with GORD: a prospective pragmatic trial using pantoprazole [J]. BMC Gastroenterol, 2011, 11: 52.

[12] Hiyama T, Matsuo K, Urabe Y, et al. Meta-analysis used to identify factors associated with the effectiveness of proton pump inhibitors

against non-erosive reflux disease [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(8): 1326-32.

[13] Fass R, Fennerty M B, Vakil N. Nonerosive reflux disease—current concepts and dilemmas [J]. Am J Gastroenterol, 2001, 96(2): 303-14.

## Effect of anxiety and depression on the treatment in patients with gastroesophageal reflux disease

Wang Weiwei, Wang Yalei, Xu Jianming, et al

(Dept of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract** Reflux disease questionnaire (RDQ), hospital anxiety and depression scale (HADS) and Pittsburgh sleep quality index (PSQI) were filled out by 189 gastroesophageal reflux disease (GERD) patients and 347 healthy subjects. The GERD patients were divided into 56 reflux esophagitis (RE) patients and 133 non-erosive reflux disease (NERD) patients. GERD patients were treated with esomeprazole 40 mg/d for 2 weeks. The proportion of anxiety, depression and sleep disorder in GERD patients was significantly higher than that in healthy subjects ( $P < 0.05$ ). There was no difference between RE patients and NERD patients in the proportion of anxiety, depression and sleep disorder ( $P > 0.05$ ). Anxiety, depression and sleep disorder of GERD patients were positively correlated with the severity of symptoms. Single logistic regression analysis showed that female, NERD, anxiety and depression were risk factors of the efficacy of proton pump inhibitors (PPI). Multivariable logistic regression showed that NERD and female were independent predictors of the efficacy of PPI.

**Key words** gastroesophageal reflux disease; proton pump inhibitors; anxiety; depression

性关节周围炎、自发性肌腱断裂及肌肉软弱、肌病等; ② 心血管系统损伤: 血管及心脏瓣膜钙化、心血管结构和功能的改变、心源性猝死等; ③ 皮肤损伤: 包括皮肤钙化、瘙痒、溃疡形成及组织坏死等; ④ 钙化防御, 即钙化性尿毒症动脉病变( calcific-uremic-arterriolopathy ,CUA); ⑤ 其他如贫血、生长迟缓、失眠、不安腿综合征等<sup>[2-3]</sup>。严重病例可表现为退缩人综合征<sup>[4]</sup>( shrinking man syndrome ,SMS)、Saglik-er 综合征<sup>[5-6]</sup>。SHPT 与原有肾脏病构成恶性循环, 严重影响患者的生存及预后。

SHPT 发病机制目前尚未完全明确, 传统观点认为其机制主要为各种原因引起的低钙、高磷刺激甲状旁腺合成并分泌 PTH<sup>[7]</sup>。目前认为抗衰老蛋白  $\alpha$ -Klotho ( 以区别于后来在肠道内发现的  $\beta$ -Klotho, 下文中 Klotho 即指  $\alpha$ -Klotho) 在调节钙磷代谢及 SHPT 发展中起着重要作用<sup>[8]</sup>。

### 1 Klotho 蛋白简介

Klotho 基因是新发现的与人类衰老相关的基因, 于1997年由 Kuro-o et al<sup>[9]</sup>在研究自发型高血压时发现。人类 Klotho 基因定位于染色体 13q12 区域, 全长 50 kbp, 由 4 个内含子和 5 个外显子组成。研究<sup>[10]</sup>表明, Klotho 基因 mRNA 第三外显子有一内在选择性剪切位点, 50 bp 片段插入该剪切位点, 其 RNA 只表达 3 个外显子, 从而编码可溶性 Klotho 蛋白( sKlotho), 又称分泌型 Klotho 或循环型 Klotho, 其约 549 个氨基酸, 存在于血液、尿液、脑脊液中, 以游离形式发挥生物学效应; 如果该剪切位点没有接受 50 bp 片段插入, 其外显子全部表达而编码模型 Klotho 蛋白, 这种模型蛋白为一次性跨膜蛋白, 含有 1 012 个氨基酸, 包括 N 端信号序列、胞内区、跨膜区和胞外区( 含有两个重复序列 KL1、KL2)。KL1 和 KL2 含有 550 个氨基酸, 和  $\beta$ -糖苷酶同源。KL1 和 KL2 之间含有 Lys-Lys-Arg-Lys 序列, 此为蛋白水解酶的作用位点。如被蛋白水解酶水解, 则胞外区脱落形成分泌型蛋白( 缺少 KL2、跨膜区和胞内区)。目前研究<sup>[11]</sup>显示, 分泌型 Klotho 蛋白, 即循环中的 Klotho 蛋白有 3 种来源: Klotho 基因直接编码; 膜型 Klotho 蛋白水解片段脱落入血; Klotho 蛋白通过与  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶结合从内质网和高尔基体上转移至细胞膜表面, 之后被水解。

### 2 模型 Klotho 蛋白在 SHPT 发生发展中的作用

Klotho 蛋白主要在肾脏和甲状旁腺中表达。

Klotho 蛋白作为 FGF23 需辅助受体, 可以调节 FGF23 4 种受体( FGFR1、FGFR2、FGFR3 和 FGFR4) 的活性, 使受体由低亲和力的特性转化为高亲和力<sup>[12]</sup>, 与 FGF23 结合形成所谓的 FGF23-Klotho 轴<sup>[13]</sup>, 在调节钙磷代谢、PTH 生成及分泌中起着重要作用。见图 1。

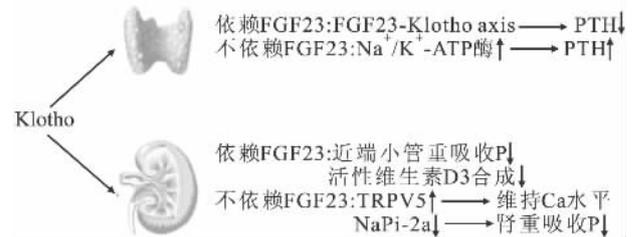


图 1 组织与循环 Klotho 蛋白在甲状旁腺及肾脏作用示意图

**2.1 Klotho 蛋白在肾脏中的作用** Klotho 蛋白在肾脏可与 FGF23 协同, 抑制肾脏近端小管对磷的重吸收。和 FGFR 受体相互作用, 抑制 25(OH)-维生素 D-1 $\alpha$  羟化酶, 减少 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>( 活性维生素 D<sub>3</sub>) 的生成, 并促进其灭活, 进而调节机体的钙磷代谢。在肾脏, Klotho 蛋白主要表达在远端小管, 且此段小管表达 FGFR1, 说明肾远端小管可能是 FGF23 的效应部位<sup>[14]</sup>。但肾脏重吸收磷的部位主要在近端肾小管, 而非远端肾小管。针对这一矛盾现象, 可能的解释之一是分泌型 sKlotho 蛋白在肾脏内或肾脏外部出现转移, 当 sKlotho 蛋白以及 FGF23 到达肾脏近端小管后, 与近端小管上表达的 FGFR3 结合, 从而发挥抑制近端小管重吸收磷的作用<sup>[15]</sup>。

**2.2 Klotho 在甲状旁腺中的作用** Klotho 蛋白在甲状旁腺中的作用更加复杂。甲状旁腺组织表达 Klotho 蛋白及 FGFR, 目前已经证实甲状旁腺是 FGF23 的靶器官<sup>[16]</sup>。在甲状旁腺组织中, FGF23 可在受体水平与 Klotho 蛋白结合作用于甲状旁腺, 调节 PTH 的生成与分泌。体内实验及离体实验均证实, Klotho 蛋白能够使 FGFR 由低亲和力受体转化为高亲和力受体, 与 FGF23 结合后, 发挥 FGF23 对甲状旁腺细胞内 PTH mRNA 表达及 PTH 分泌的抑制效应。由此可见, FGF23 发挥生物学效应需要 Klotho 蛋白存在, Klotho 蛋白与 FGF23 结合形成 FGF23-Klotho 轴。在此通路中 Klotho 蛋白作为 FGF23 受体活化所必须的辅助因子, 是必需辅助受体, 在抑制 PTH 生成与分泌中起着重要作用。

大量的临床研究<sup>[17]</sup>观察慢性肾脏病( chronic kidney disease ,CKD) 患者, 特别是终末期 CKD 患

者血清 FGF23 水平通常显著增高,同时伴有血清 PTH 的高表达,这一现象与 FGF23 能够降低血 PTH 水平的理论相悖。目前多项实验证据<sup>[17-18]</sup>证实,血清 FGF23 与 PTH 呈正相关。基于 CKD 患者血清 FGF23 水平与 PTH 呈正相关现象, Komaba et al<sup>[19]</sup>研究发现血清 FGF23 对 PTH 分泌抑制作用的减弱可能与 Klotho、FGFR mRNA 表达下降以及细胞增生标志物 Ki67 的上调有关,并认为甲状旁腺组织可能存在 FGF23 抵抗。同时 Kumata et al<sup>[20]</sup>通过对离体后增生的甲状旁腺组织研究,也发现增生的甲状旁腺组织中 Klotho、FGFR1c 表达减少,钙敏感受体 CaR 表达亦下降, Klotho、FGFR1c 与 CaR 表达呈正相关;同时细胞增生标志物 Ki67 表达亦上调。另外在结节性甲状旁腺组织 Klotho 蛋白及 FGFR1c 表达较弥漫性增生的甲状旁腺上的表达显著减少,此种现象说明随着 SHPT 病情进展,甲状旁腺腺体发生组织学改变,其组织中 Klotho 蛋白及 FGFR1c 表达逐渐减少。于是笔者认为增生的甲状旁腺 Klotho 及 FGFR1c 表达下降可能为 FGF23 抵抗的原因之一。针对甲状旁腺组织 Klotho 及 FGFR 与血清参数(如血清钙、磷、PTH 等)之间的关系,因研究纳入的 SHPT 病例比较少( $n=12$ ),且多个甲状旁腺腺体可能来自同一病例,不能确定所选的甲状旁腺腺体是否能够真实反应该病例,故在该研究中无法进行分析。

在甲状旁腺组织, Klotho 蛋白不仅能通过与 FGF23 结合形成 FGF23-Klotho 轴发挥抑制 PTH 合成及分泌的作用,还可不依赖于 FGF23,直接调节 PTH 合成、分泌。其机制是 Klotho 蛋白通过与甲状旁腺组织中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶的  $\alpha 1$ -亚单位分子间的相互作用,直接作用于  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶,进而促进 PTH 合成及分泌<sup>[21]</sup>。然而 CKD 患者 SHPT 却不断进展,“甲状旁腺内存在阴-阳状态”这种假设或许能够解释这种现象<sup>[15]</sup>:在阴的状态时,虽然 FGF23-FGFR 途径对 PTH 分泌有抑制作用,但 Klotho- $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶途径完全激活,反而加强了 PTH 的分泌;相反在阳的状态时,由于 Klotho 蛋白下降, FGF23-FGFR 途径抑制 PTH 分泌的作用不能完全发挥,导致 PTH 分泌增加,而 Klotho- $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶途径活性的下降不能抵消前者引起的 PTH 的增加,最终引起高水平的 PTH。这种假设的基础是机体对 PTH 的合成及分泌有不断地刺激,而反调节机制仅部分有效。

### 3 sKlotho 蛋白在 SHPT 中的作用

sKlotho 蛋白以旁分泌和自分泌的形式发挥生物学效应<sup>[22]</sup>。

#### 3.1 sKlotho 作为激素作用于全身多个组织、器官

sKlotho 蛋白作为一种激素,其靶目标为多种组织、器官,可发挥抗衰老、抑制细胞凋亡、心血管保护、调节血压、减少氧化应激以及避免肾脏纤维化等作用<sup>[23]</sup>。sKlotho 蛋白减少,可诱发或加重心血管钙化等,进一步加重 SHPT 对患者的影响。

#### 3.2 sKlotho 以旁分泌形式发挥生理学效应

研究<sup>[24]</sup>显示 Klotho 蛋白具有  $\beta$ -葡糖醛酸酶活性,其能通过旁分泌形式调解瞬时受体电位香草酸亚型 1 (TRPV5) 和  $\text{K}^+$  通道 ROMK。TRPV5 是肾脏远曲小管上皮细胞膜上的钙离子通道,是肾脏重吸收钙的部位。研究<sup>[25]</sup>表明,重组 Klotho 蛋白能够增强人胚肾细胞(HEK293)钙内流以及细胞表面 TRPV5 的表达。其能够水解 TRPV5 N-寡聚糖链末端的唾液酸,末端唾液酸使半乳素 1 与 TRPV5 结合,结果使 TRPV5 的内化减少,TRPV5 在上皮细胞膜表面的滞留增加。因此, Klotho 蛋白的存在使肾脏对钙离子重吸收增加,以维持正常水平的血钙浓度。如前所述,在肾脏, Klotho 蛋白可以与 FGF23 在肾脏近端小管与 FGFR3 相互作用,抑制肾脏对磷的重吸收。另外, sKlotho 还可不依赖于 FGF23,直接作用于肾近端小管刷状缘膜钠磷共转运体 2a 型( $\text{NaPi-2a}$ )以及肠内  $\text{NaPi-2b}$  转运体,使两者表达及活性受到抑制,从而限制体内磷的重吸收,避免高磷血症的发生<sup>[26-27]</sup>。而对于 CKD 特别是尿毒症患者,由于 DNA 转甲基酶表达增加, DNA 甲基化,导致 CKD 患者 Klotho 蛋白表达量较健康人群明显下降<sup>[28]</sup>,且随着 CKD 进展 Klotho 渐减少<sup>[29-30]</sup>。减少的 Klotho 蛋白对钙重吸收以及抑制磷重吸收作用均明显减弱,导致低钙、高磷血症,最终引起 SHPT 的发生与发展。

### 4 小结

随着对 Klotho 蛋白研究的不断深入,其在肾性 SHPT 发生发展中的作用正被逐渐认识。目前已知 Klotho 蛋白能够以模型 Klotho 以及分泌型 sKlotho 形式,通过 FGF23 依赖以及非 FGF23 依赖的途径,调节钙磷代谢以及 PTH 合成及分泌,其与 SHPT 之间的关系正被不断地阐明。尽管如此,但仍有诸多问题,如 Klotho 蛋白、FGFR1c 与甲状旁腺细胞增生

及 PTH 合成、分泌之间确切的关系,以及 SHPT 中 Klotho 基因表达的调控机制、Klotho 蛋白具体的传导信号等,目前尚不完全清楚,需要更进一步的研究。

### 参考文献

- [1] Nakanishi S, Kazama J J, Nii-Kono T, et al. Serum fibroblast factor-23 levels predict the future refractory hyperparathyroidism in dialysis patients[J]. *Kidney Int*, 2005, 67(3): 1171-8.
- [2] Lishmanov A, Dorairajan S, Pak Y, et al. Elevated serum parathyroid hormone is a cardiovascular risk factor in moderate chronic kidney disease[J]. *Int Urol Nephrol*, 2012, 44(2): 541-7.
- [3] Van Ballegooijen A J, Reinders I, Visser M, et al. Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: A systematic review and meta-analysis of prospective studies[J]. *Am Heart J*, 2013, 165(5): 655-64.
- [4] Horensten M L, Boner G, Rosenfeld J B. The shrinking man: A manifestation of severe renal osteodystrophy[J]. *JAMA*, 1980, 244(3): 267-8.
- [5] Sagliker Y, Balal M, Sagliker Ozkaynak P, et al. Sagliker syndrome: uglifying human face appearance in late and severe secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure[J]. *Semin Nephrol*, 2004, 24(5): 449-55.
- [6] Zhang L, Yao L, Bian W J, et al. Severe uremic leontiasis ossea ameliorated by total parathyroidectomy[J]. *Kidney Int*, 2009, 76(10): 1118.
- [7] Slatopolsky E, Dusso A, Brown A J. The role of phosphorus in the development of secondary hyperparathyroidism and parathyroid cell proliferation in chronic renal failure[J]. *Am J Med Sci*, 1999, 317(6): 370-6.
- [8] Hu M C, Kuro-o M, Moe O W. Klotho and chronic kidney disease[J]. *Contrib Nephrol*, 2013, 180: 47-63.
- [9] 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.
- [10] Imura A, Aiwan O, Tohyama O, et al. Secreted Klotho protein in sera and CSF: implication for post-translational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane[J]. *FEBS Lett*, 2004, 565(1-3): 143-7.
- [11] Wang Y H, Sun Z J. Current understanding of klotho[J]. *Ageing Ras Rev*, 2009, 8(1): 43-51.
- [12] Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23[J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 770-4.
- [13] Koizumi M, Komaba H, Fukagawa M. Parathyroid function in chronic kidney disease: role of FGF23-Klotho axis[J]. *Contrib Nephrol*, 2013, 180: 110-23.
- [14] Liu S, Vierthaler L, Tang W, et al. FGFR3 and FGFR4 do not mediate renal effects of FGF23[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(12): 2342-50.
- [15] Drüeke T B. Klotho, FGF23, and FGF receptors in chronic kidney disease: a yin-yang situation? [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(11): 1057-60.
- [16] Ben-Dov I Z, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(12): 4003-8.
- [17] Isakova I, Gunerrez O M, Wolf M. A blueprint for randomized trials targeting phosphorus metabolism in chronic kidney disease[J]. *Kidney Int* 2009, 76(7): 705-16.
- [18] Komaba H, Fukagawa M. FGF23-Parathyroid interaction: implications in chronic kidney disease[J]. *Kidney Int* 2010, 77(4): 292-8.
- [19] Komaba H, Goto S, Fujii H, et al. Depressed expression of Klotho and FGF receptor 1 in hyperplastic parathyroid glands from uremic patients[J]. *Kidney Int*, 2010, 77(3): 232-8.
- [20] Kumata C, Mizobuchi M, Ogata H, et al. Involvement of Alpha-Klotho and fibroblast growth factor receptor in the development of secondary hyperparathyroidism[J]. *Am J Nephrol*, 2010, 31(3): 230-8.
- [21] Imura A, Tsuji Y, Murata M, et al.  $\alpha$ -klotho as a regulator of calcium homeostasis[J]. *Science*, 2007, 316(5831): 1615-8.
- [22] Drüeke T B, Massy Z A. Circulating Klotho levels: clinical relevance and relationship with tissue Klotho expression[J]. *Kidney Int*, 2012, 83(1): 13-5.
- [23] Kuro-o M. Klotho in health and disease[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2012, 21(4): 362-8.
- [24] Huang C L. Regulation of ion channels by secreted Klotho: mechanisms and implications[J]. *Kidney Int*, 2010, 77(10): 855-60.
- [25] Cha S K, Ortega B, Kuresu H, et al. Removal of sialic acid involving Klotho cm. 18e6 eell • sndace retention of TRPV5 channel via binding to galeetill-4 [J]. *Proe Natl Aead Sci USA*, 2008, 105(28): 9805-10.
- [26] Hu M C, 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): 3438-50.
- [27] Dermaku-Sopjani M, Sopjani M, Saxena A, et al. Downregulation of NaPi-IIa and NaPi-IIb Na-coupled phosphate transporters by co-expression of Klotho[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2011, 28(2): 251-8.
- [28] Sun C Y, Chang S C, Wu M S. Suppression of Klotho expression by protein-bound uremic toxins is associated with increased DNA methyltransferase expression and DNA hypermethylation[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(7): 640-50.
- [29] Akimoto T, Yoshizawa H, Watanabe Y, et al. Characteristics of urinary and serum soluble Klotho protein in patients with different degrees of chronic kidney disease[J]. *BMC Nephrology*, 2012, 23(13): 155-63.
- [30] Yokoyama K, Imura A, Ohkido I, et al. Serum soluble  $\alpha$ -klotho in hemodialysis patients[J]. *Clin Nephrol*, 2012, 77(5): 347-51.