

Klotho 基因与认知障碍相关性的研究进展

徐敏 杨兰青 仲喆 叶氏

210019 南京医科大学附属明基医院神经内科

通信作者: 叶氏, Email: yemin1970@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2022.11.013

【摘要】 Klotho 基因是抗衰老基因, 其编码的 Klotho 蛋白具有抵抗衰老、延长寿命的作用, 与认知功能息息相关。Klotho 蛋白在如阿尔茨海默病、帕金森病、额颞叶痴呆等神经变性病认知障碍以及血管性认知障碍中均发挥重要作用, 通过诸如缓解 β 淀粉样蛋白负担、减轻炎症反应、抵抗氧化应激等方式保护认知功能。现总结国内外关于 Klotho 基因、Klotho 蛋白与各型认知障碍的研究进展, 旨在为该领域的研究提供理论依据。

【关键词】 认知障碍; Klotho 基因; 神经变性病; 血管性认知障碍; 综述

Research progress on the correlation between Klotho gene and cognitive impairment Xu Min, Yang Lanqing, Zhong Zhe, Ye Min

Department of Neurology, the Affiliated BenQ Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210019, China
Corresponding author: Ye Min, Email: yemin1970@163.com

【Abstract】 The Klotho gene is an anti-aging gene, and the Klotho encoded protein has the effect of anti-aging and prolonging lifespan, which is closely related to cognitive function. Klotho protein plays an important role in cognitive impairment of neurodegenerative diseases such as Alzheimer disease, Parkinson disease, and frontotemporal dementia, and vascular cognitive impairment. It can protect cognitive function by such means as mitigation β -amyloid protein burden, reduce inflammatory reaction, resist oxidative stress and other ways. This paper summarizes the current research progress on Klotho gene, Klotho protein and various types of cognitive impairment at home and abroad, in order to provide a theoretical basis for the research in this field.

【Key words】 Cognitive impairment; Klotho; Neurodegenerative disease; Vascular cognitive impairment; Review

Klotho(Kl) 基因是一个较为热门的研究指标, 其高表达有助于延长寿命。Kl 基因选择性剪切后转录为跨膜型或分泌型 Kl 蛋白, 表现多种生物学活性, 如跨膜型 Kl 蛋白与成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR) 结合成为 FGF23 的共受体, 调控 FGF23 的功能^[1], 调节矿物质代谢和维生素 D 稳态; 分泌型 Kl 蛋白抵抗氧化应激、抑制细胞炎症和凋亡、促进血管发生等^[2-3]。既往研究显示, 血清中的 Kl 蛋白能高度反映脑脊液中的 Kl 蛋白水平, 两者呈正相关^[4]。

认知障碍是影响老年人生活质量的一类疾病, 以 AD 及血管性认知障碍(vascular cognitive impairment, VCI) 多见。相关研究认为, Kl 蛋白与认知功能关系密切^[5], 其在大脑脉络丛和海马等脑实质中均有高度表达。Kl 蛋白是认知功能的重要保护蛋白, 然而 Kl-VS 杂合性对认知功能却没有展示出积极作用,

Kl-VS 杂合性由 Kl 基因外显子 2 区域的单核苷酸多态性位点发生错义突变形形成, Kl-VS 杂合子携带者的血清 Kl 蛋白水平升高, Kl-VS 纯合子携带者的血清 Kl 蛋白水平降低^[6]。

对于 Kl 基因、Kl 蛋白与认知障碍的关系目前研究较多, 多项研究认为 Kl 基因敲除后小鼠会展现如 AD、PD 等神经变性和血管损害等缺血性神经系统改变^[7-9], 这些疾病进展后出现的认知障碍可能与 Kl 蛋白浓度相关。现汇总国内外关于 Kl 基因、Kl 蛋白与神经变性病认知障碍、VCI 等认知功能障碍疾病之间的关系, 旨在为该领域的研究提供理论依据。

一、Kl 基因与神经变性病认知障碍

(一)AD: AD 是常见的神经系统变性疾病, 其病理学方面的典型改变为 β 淀粉样蛋白(amyloid- β , A β) 在神经细胞外沉积形成的神经炎性斑和过度磷酸化的 tau 蛋白在神经细胞内聚集形成的神经元

纤维缠结,临床表现通常为远近记忆障碍、失语、失用、人格和行为改变等。

1. KI基因与KI蛋白: KI基因广泛表达于大脑皮质和海马神经元,随着年龄的增长,蛋白浓度逐年降低,与学习和记忆能力密切相关。研究发现, KI基因敲除小鼠表现出与认知功能受损有关的胆碱能通路受损、突触功能损害、氧化损伤和凋亡反应^[10], 而KI蛋白过表达的个体与对照相比,认知下降速度较慢、执行功能更好^[11]。Massó等^[12]将携带家族性AD突变基因的小鼠与健康小鼠大脑组织中的KI蛋白的分泌水平在不同月龄时进行比较,发现随着年龄的增长,两种小鼠前额叶皮层、大脑皮层、海马中的KI蛋白水平均下降,AD小鼠下降更明显(分别下降41%、49%、63%),认知相关区域下降最为显著。

2. KI-VS基因多态性: 相关研究显示,携带KI-VS杂合子的成年人在全局认知测量(包括语言、执行功能、视觉空间功能、学习和记忆的综合测量)方面的表现优于非携带者,在时间纵向方面的认知能力下降也较慢^[13]。然而,在儿童和青少年中进行的队列研究显示,KI-VS杂合子携带者与非携带者相比,认知功能和大脑结构差别无统计学意义,经KI-VS×年龄处理后,显示在认知(特别是执行功能、注意力、情景记忆和一般认知)、总灰质和总脑容量方面存在相关性,KI-VS杂合子携带者在11岁之前有更好的认知能力,但在11岁之后认知能力较低^[14]。一项研究认为,KI-VS在认知方面存在杂合子的劣势^[15]。Deary等发现,与对照相比,KI-VS纯合子携带者的智商下降,而杂合子携带者没有变化^[16]。2014年的研究报道KI-VS杂合子携带者的认知功能提高^[17]。2017年的一项研究验证,携带KI-VS杂合子的老年男性,其痴呆年发病率低于纯合子携带者^[18]。2019年的一项研究表明,KI-VS杂合子可通过减弱APOE4阳性所引起的Aβ负荷减缓认知障碍的发生^[19]。这与Tank等^[20]的研究结果一致,其发现在60~80岁人群中,基因型为KI-VS杂合子与降低的Aβ负荷、AD风险有关,80岁以后基因型为KI-VS杂合子的健康对照组转化为轻度认知功能障碍或AD的风险也会降低^[21];而2021年的研究进一步认为,KI-VS杂合性基因型对Aβ相关tau病理和tau相关记忆障碍具有保护作用,与非携带者相比,当每单位Aβ-PET增加时,KI-VS杂合子的tau-PET横截面和纵向增加较少^[22]。尽管Gaitán等^[23]在有AD风险的成年人中发现,与非携带者相比,KI-VS杂合子和纯合子携带者的脑脊液KI蛋白均升高,血

清水平低于脑脊液,不因基因型之间存在差异,但该结果可能与AD病程相关,KI-VS杂合性基因型的优势需要通过更长期的随访观察确定。

3.发病机制: 当KI蛋白缺乏时,海马神经元突触数量下降、海马轴突运输障碍等结构发生变化,海马神经元细胞的形态发生改变,对编码记忆所需的突触电位特异性增强的敏感性减弱,导致学习、记忆信号传导功能受损^[24]。而KI蛋白过表达时,皮层和海马突触后N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)亚单位GluN2B的密度会翻倍,NMDAR依赖性Fos基因的表达也会增加,这使得突触可塑性增强^[25]。一方面,大脑和血清中KI蛋白水平的上调能减轻AD的Aβ负荷,其主要通过抑制小胶质细胞中的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号传导,激活自噬溶酶体系统,促进Aβ的自噬清除以及调节Aβ转运蛋白的表达,增强小胶质细胞介导的Aβ清除^[26-27]。另一方面,分子机制中的KI蛋白保护着海马神经元,其能增强硫氧还蛋白/过氧化物酶氧化还原系统的表达^[28],还能通过下调Wnt水平和上调磷酸化环腺苷酸反应元件结合等的mRNA水平,缓解暴露于Aβ的细胞的凋亡、氧化应激和炎症反应^[29]。

(二)PD相关认知障碍: PD是发病率仅次于AD的神经系统变性疾病,认知障碍是PD常见的非运动症状之一,早中期患者的表现以执行功能、注意力、工作记忆能力下降为主,而晚期患者在执行能力、注意力、视空间能力及记忆方面均表现出异常。Zimmermann等^[8]的研究认为,携带KI-VS纯合子的PD患者的脑脊液KI蛋白水平低,与此同时PD起病与出现认知障碍的时间间隔会缩短。

(三)额颞叶痴呆(frontotemporal dementia, FTD): FTD是与额颞叶变性有关的非AD痴呆综合征,其临床表现与病理学特征均具有明显的异质性,以认知损害、行为异常、言语障碍为主要表现。C9ORF72基因是海马突触可塑性和成人神经发生所必需的基因型,C9ORF72的六核苷酸重复扩增是FTD常见的遗传原因,而Ho等^[30]认为KI蛋白失调可能是C9ORF72介导的毒性的一部分,这意味着KI蛋白有可能参与了FTD的发病。

二、KI基因与VCI

VCI是认知障碍中发病率仅次于AD的疾病,其包含所有可能由血管因素引起的认知损害,而血管因素作为一种可预防和可治疗的病因,在VCI的发病中发挥重要作用。已有研究认为,老年人的低血

浆KI蛋白水平与VCI之间存在相关性^[31]。

1. 卒中后认知障碍(post-stroke cognitive impairment, PSCI): PSCI是VCI的一种,指在卒中发生前,有或无轻度认知损害的证据,在卒中发病后6个月内出现即刻和(或)迟发性认知功能减退,并且认知功能未能恢复正常^[32]。PSCI患者血清中的KI蛋白水平低于非痴呆患者,提示KI蛋白可作为缺血性卒中后预测认知障碍的标志物^[33]。PSCI与卒中事件的发生存在关系,目前认为减少卒中事件的发生是预防PSCI的关键因素,研究KI蛋白与急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)的关系或许可以为PSCI的治疗提供方向。AIS患者的血清KI蛋白水平低于健康对照者^[34],随着梗死面积增大呈降低趋势^[35],KI蛋白水平与梗死体积、NIHSS评分呈负相关^[36]。KI蛋白还能改善AIS患者的预后。与预后良好(改良Rankin量表<3分)的患者相比,预后不良组的血浆KI蛋白水平较低,KI蛋白浓度增加与良好的功能结果存在相关性^[3]。然而也有研究认为,血清中的KI蛋白水平与AIS患者神经功能缺损的严重程度和长期预后无关^[37]。

2. 脑小血管病:脑小血管病指影响脑内小动脉、微动脉、毛细血管、微静脉和小静脉的各种病因所引起的一系列综合征,可出现认知、运动、情感和排便障碍等各种症状。研究显示,KI蛋白可以延缓脑小血管疾病特定脑磁共振的白质高信号、血管周围间隙、脑微出血和无症状腔隙性脑梗死的进展,表现为血浆KI蛋白浓度与脑小血管病的进展和严重程度呈负相关^[38]。

3. 发病机制:KI基因是血管疾病的候选因子,KI蛋白过表达在小鼠短暂性双侧颈总动脉闭塞引起的脑低灌注72 h后能改善神经行为缺陷,并增加海马CA1区域中活性神经元的数量,而KI基因敲除会加剧大鼠大脑中动脉闭塞2 h再灌注22 h后的神经功能障碍^[39]。这可能是通过抑制缺血性脑组织中维甲酸诱导基因-1表达、核因子- κ B活化和促炎细胞因子如TNF- α 和IL-6的产生而实现。体内KI基因缺乏会导致内皮依赖性血管舒张功能和血管生成受损,并且含有头颈部动脉血管易损斑块患者的血清KI蛋白水平低于稳定斑块组及无斑块组(易损斑块组<稳定斑块组<无斑块组)^[35]。以上研究均说明,KI蛋白与血管性认知障碍的危险因素如脑血管功能异常、脑白质变性等有关,需要引起重视,进行深入研究,未来可以将KI蛋白应用于认知障碍的治疗中。

三、总结与展望

KI基因是抗衰老基因,选择性剪切编码KI蛋白,而因单核苷酸多态性位点基因突变出现KI-VS杂合性,KI-VS杂合子携带者的血清KI蛋白水平升高。总体而言,KI蛋白对认知功能呈现的是保护作用,KI蛋白表达水平升高主要通过减轻炎症、氧化损伤等方式改善相关疾病的发病,降低各型认知功能的下降速度。然而目前的研究主要集中在AD中,其他类型认知障碍研究较少,需要进行更多的相关研究。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 构思与设计、论文撰写为徐敏,文献调研与整理为徐敏、杨兰青、仲喆,论文修订、审校为叶民

参 考 文 献

- [1] Chen G, Liu Y, Goetz R, et al. α -Klotho is a non-enzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signalling[J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 461-466. DOI: 10.1038/nature25451.
- [2] Sedighi M, Baluchnejadmojarad T, Afshin-Majid S, et al. Anti-aging Klotho protects SH-SY5Y cells against amyloid β 1-42 neurotoxicity: involvement of Wnt1/pCREB/Nrf2/HO-1 signaling[J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(1): 19-27. DOI: 10.1007/s12031-020-01621-9.
- [3] 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. DOI: 10.1080/07853890.2019.1617434.
- [4] Kundu P, Zimmerman B, Quinn JF, et al. Serum levels of α -Klotho are correlated with cerebrospinal fluid levels and predict measures of cognitive function[J]. *J Alzheimers Dis*, 2022, 86(3): 1471-1481. DOI: 10.3233/JAD-215719.
- [5] 徐敏,叶民. Klotho基因在神经变性病中的研究进展[J]. *临床神经病学杂志*, 2021, 34(2): 157-160. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1648.2021.02.020.
Xu M, Ye M. Research progress of Klotho gene in neurodegenerative diseases[J]. *J Clin Neurol*, 2021, 34(2): 157-160.
- [6] Yokoyama JS, Marx G, Brown JA, et al. Systemic klotho is associated with KLOTHO variation and predicts intrinsic cortical connectivity in healthy human aging[J]. *Brain Imaging Behav*, 2017, 11(2): 391-400. DOI: 10.1007/s11682-016-9598-2.
- [7] Vo HT, Phillips ML, Herskowitz JH, et al. Klotho deficiency affects the spine morphology and network synchronization of neurons[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2019, 98: 1-11. DOI: 10.1016/j.mcn.2019.04.002.
- [8] Zimmermann M, Köhler L, Kovarova M, et al. The longevity gene Klotho and its cerebrospinal fluid protein profiles as a modifier for Parkinson's disease[J]. *Eur J Neurol*, 2021, 28(5): 1557-1565. DOI: 10.1111/ene.14733.
- [9] Kuro-O M. Phosphate as a pathogen of arteriosclerosis and aging[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2021, 28(3): 203-213. DOI: 10.5551/jat.RV17045.
- [10] Cararo-Lopes MM, Mazucanti C, Scavone C, et al. The relevance of α -KLOTHO to the central nervous system: some key questions[J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 36: 137-148. DOI: 10.1016/j.ar.2017.03.003.

- [11] Laszczyk AM, Fox-Quick S, Vo HT, et al. Klotho regulates postnatal neurogenesis and protects against age-related spatial memory loss[J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 59: 41-54. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.07.008.
- [12] Massó A, Sánchez A, Gimenez-Llort L, et al. Secreted and transmembrane α Klotho isoforms have different spatio-temporal profiles in the brain during aging and Alzheimer's disease progression[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143623. DOI: 10.1371/journal.pone.0143623.
- [13] de Vries CF, Staff RT, Harris SE, et al. Klotho, APOE ϵ 4, cognitive ability, brain size, atrophy, and survival: a study in the Aberdeen Birth Cohort of 1936 [J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 55: 91-98. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.02.019.
- [14] de Vries CF, Staff RT, Noble KG, et al. Klotho gene polymorphism, brain structure and cognition in early-life development[J]. *Brain Imaging Behav*, 2020, 14(1): 213-225. DOI: 10.1007/s11682-018-9990-1.
- [15] Müller BW, Hinney A, Scherbaum N, et al. Klotho KL-VS haplotype does not improve cognition in a population-based sample of adults age 55-87 years[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 13852. DOI: 10.1038/s41598-021-93211-x.
- [16] Deary IJ, Harris SE, Fox HC, et al. KLOTHO genotype and cognitive ability in childhood and old age in the same individuals[J]. *Neurosci Lett*, 2005, 378(1):22-27. DOI: 10.1016/j.neulet.2004.12.005
- [17] Dubal DB, Yokoyama JS, Zhu L, et al. Life extension factor klotho enhances cognition[J]. *Cell Rep*, 2014, 7(4): 1065-1076. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.03.076.
- [18] Almeida OP, Morar B, Hankey GJ, et al. Longevity Klotho gene polymorphism and the risk of dementia in older men[J]. *Maturitas*, 2017, 101: 1-5. DOI: 10.1016/j.maturitas.2017.04.005.
- [19] Erickson CM, Schultz SA, Oh JM, et al. KLOTHO heterozygosity attenuates APOE4-related amyloid burden in preclinical AD[J]. *Neurology*, 2019, 92(16): e1878-e1889. DOI: 10.1212/WNL.0000000000007323.
- [20] Tank R, Ward J, Celis-Morales C, et al. Testing for interactions between APOE and Klotho genotypes on cognitive, dementia, and brain imaging metrics in UK biobank[J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 83(1): 51-55. DOI: 10.3233/JAD-210181.
- [21] Belloy ME, Napolioni V, Han SS, et al. Association of Klotho-VS heterozygosity with risk of Alzheimer disease in individuals who carry APOE4 [J]. *JAMA Neurol*, 2020, 77(7): 849-862. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.0414.
- [22] Neitzel J, Franzmeier N, Rubinski A, et al. KL-VS heterozygosity is associated with lower amyloid-dependent tau accumulation and memory impairment in Alzheimer's disease[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3825. DOI: 10.1038/s41467-021-23755-z.
- [23] Gaitán JM, Dubal DB, Okonkwo OC. Circulating klotho is elevated in cerebrospinal fluid, but not serum, among KLOTHO KL-VS allele carriers at risk for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2021, 17 Suppl 2: e058612. DOI: 10.1002/alz.058612.
- [24] Vo HT, Phillips ML, Herskowitz JH, et al. Klotho deficiency affects the spine morphology and network synchronization of neurons[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2019, 98: 1-11. DOI: 10.1016/j.mcn.2019.04.002.
- [25] Hanson K, Fisher K, Hooper NM. Exploiting the neuroprotective effects of α -klotho to tackle ageing- and neurodegeneration-related cognitive dysfunction[J]. *Neuronal Signal*, 2021, 5(2): NS20200101. DOI: 10.1042/NS20200101.
- [26] Zeng CY, Yang TT, Zhou HJ, et al. Lentiviral vector-mediated overexpression of Klotho in the brain improves Alzheimer's disease-like pathology and cognitive deficits in mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2019, 78: 18-28. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.02.003.
- [27] Zhao Y, Zeng CY, Li XH, et al. Klotho overexpression improves amyloid- β clearance and cognition in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Aging Cell*, 2020, 19(10): e13239. DOI: 10.1111/ace1.13239.
- [28] Ismael S, Nasoohi S, Li L, et al. Thioredoxin interacting protein regulates age-associated neuroinflammation[J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 156: 105399. DOI: 10.1016/j.nbd.2021.105399.
- [29] Li B, Zhou M, Peng J, et al. Mechanism of the fibroblast growth factor 23/ α -Klotho axis in peripheral blood mononuclear cell inflammation in Alzheimer's disease[J]. *Immunol Invest*, 2022, 51(5): 1471-1484. DOI: 10.1080/08820139.2021.1970180.
- [30] Ho WY, Navakkode S, Liu F, et al. Deregulated expression of a longevity gene, Klotho, in the C9orf72 deletion mice with impaired synaptic plasticity and adult hippocampal neurogenesis[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8(1): 155. DOI: 10.1186/s40478-020-01030-4.
- [31] Brombo G, Bonetti F, Ortolani B, et al. Lower plasma Klotho concentrations are associated with vascular dementia but not late-onset Alzheimer's disease[J]. *Gerontology*, 2018, 64(5): 414-421. DOI: 10.1159/000488318.
- [32] 国家卫生健康委办公厅. 血管性认知障碍的诊疗规范(2020年版) [J]. *全科医学临床与教育*, 2021, 19(3): 197-199. DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2021.003.002.
- [33] 许超, 董武松, 刘锋. 血清 Klotho 蛋白水平与缺血性脑卒中致血管性痴呆的相关性分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20(9): 913-916. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2021.09.005.
- Xu C, Dong WS, Liu F. Analysis of the correlation between serum Klotho protein level and vascular dementia induced by ischemic stroke[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2021, 20(9): 913-916.
- [34] 郭啸鸣, 曹志勇, 杜朝品. 急性脑梗死患者血清 FGF23、Klotho 水平变化[J]. *山东医药*, 2018, 58(40): 65-66. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.40.018.
- [35] 孟祥武, 李青, 陈娟, 等. 急性脑梗死患者血清 MMP-9、IGF-1 及 klotho 蛋白与颈动脉粥样硬化程度的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(24): 5907-5909. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.24.008.
- [36] 徐文武, 汪昆. Klotho、Caspase-3、Bel-2 表达水平评估急性脑梗死疾病发展程度的诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(16): 2030-2032, 2048. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.16.025.
- [37] Adamska-Tomaszewska D, Wajda J, Wyskida K, et al. Higher serum-soluble α -Klotho level does not predict longer survival after stroke[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 9283651. DOI: 10.1155/2020/9283651.
- [38] 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. DOI: 10.1371/journal.pone.0220796.
- [39] 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*, 2017, 8: 950. DOI: 10.3389/fphar.2017.00950.

(收稿日期: 2022-07-25)

(本文编辑: 赵金鑫)