

Klotho 基因在消化系统肿瘤中的研究进展

弼耀宇^{1,2}, 陆立^{1,2}, 黄丹丹^{1,2}, 任东林^{1,2*}

1.中山大学附属第六医院 盆底治疗专科, 广东 广州 510655

2.广东省结直肠盆底疾病研究重点实验室, 广东 广州 510655

【摘要】 Klotho 基因是由 Kuro 等在 1997 年发现的与衰老相关的基因, 人 Klotho 基因定位于染色体 13q12, 全长 50 kb, 其表达涉及糖代谢和钙磷代谢等多种细胞生理过程。研究发现, Klotho 基因的表达下调普遍存在于一系列恶性肿瘤中, 包括乳腺癌、胰腺癌、卵巢癌、肺癌、结直肠癌和恶性黑色素瘤, 因此, 探索 Klotho 基因和 Klotho 蛋白在肿瘤中的作用机制可能对肿瘤的诊疗及预后均有重要意义。该文就 Klotho 基因及 Klotho 蛋白在食管癌、胃癌、胰腺癌、肝细胞癌和结直肠癌等消化系统肿瘤的研究进展展开阐述。

【关键词】 Klotho 基因; 消化系统肿瘤; 肿瘤抑制

Research progress of Klotho gene in digestive tract cancers

Guo Yaoyu^{1,2}, Lu Li^{1,2}, Huang Dandan^{1,2}, Ren Donglin^{1,2*}

1.Department of Pelvic Surgery, the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, Guangdong, China

2.Guangdong Provincial Key Laboratory of Colorectal and Pelvic Floor Diseases, Guangzhou 510655, Guangdong, China

【Abstract】 Klotho gene is a senescence associated gene initially discovered by Kuro et al in 1997. Human Klotho gene is localized in chromosome 13 q12 with 50 kb in length. The expression of this gene involves multiple cellular physiological activities, including glycometabolism and calcium-phosphorus metabolism. Silencing of Klotho gene is reported in various malignances, including breast cancer, pancreatic cancer, ovarian cancer, lung cancer, colorectal cancer and malignant melanoma, hence exploring the mechanism of Klotho gene and Klotho protein in tumor may be of great significance to the diagnosis, treatment and prognosis of tumor. This review summarizes the current research progress of Klotho gene and Klotho protein in gastrointestinal cancers.

【Key words】 Klotho gene; Digestive tract cancers; Tumor suppressor

消化系统肿瘤是最常见的恶性肿瘤之一, 全球每年因消化系统肿瘤而死亡的人数超过 300 万^[1]。目前消化系统肿瘤的治疗已经取得了很大程度的改善, 但部分患者的预后仍不理想, 探索新的肿瘤生物标志物和治疗靶点至关重要。Klotho 基因是一种抗衰老基因, 其表达涉及糖代谢和钙磷代谢等多种细胞生理过程, 其基因表达下调及基因多态性与多种肿瘤易感性之间有明显联系, 被普遍认为是一种抑癌基因, 与肿瘤的细胞分化程度、临床分期和预后不良密切相关。尤其在消化系统肿瘤方面得到了较多的研究和关注。现总结关于 Klotho 在食管癌、胃癌、胰腺癌、肝细胞癌和结直肠癌等常见消化系统肿瘤的研究进展, 综述如下。

1 Klotho 基因概述

1.1 Klotho 基因和 Klotho 蛋白的结构 Klotho 是由 Kuro 等于 1997 年发现的一种抗衰老基因^[2], 其后相继报道了 β -Klotho 基因和 KLP 基因(Klotho-lactase-phlorizin hydrolase, Klotho-乳糖根皮苷水解酶)两种与 Klotho 基因序列具有高度相似性的基因, 三者同属于 Klotho 家族, 早期发现的 Klotho 基因被命名为 α -Klotho 以便区分^[2-4]。下文提及的 Klotho 基因和 Klotho 蛋白均代表 α -Klotho 及其产物。Klotho 基因是一个高度保守基因, 可以在人类、小鼠、大鼠、斑马鱼和线虫体内检测到。人 Klotho (human Klotho, hKL) 基因定位于人类 13q12, 全长 50 kb, 与 PDS5B 基因、STARD13 基因相邻。Klotho 基因编码区由 5 个外显子和 4 个内含子组成, 小鼠和人类的 Klotho 基因编码短型的、分泌型的 Klotho 蛋白, 由被可变剪接 mRNA 翻译产生。 α -Klotho 蛋白有全长跨膜 α -Klotho 和分泌型 α -Klotho 2 种类型, 均

* 通信作者: 任东林, E-mail: rendl111@163.com

已在人类和小鼠中检测到^[5]。人类 Klotho 蛋白是由 1012 个氨基酸组成的单次跨膜蛋白。Klotho 蛋白含有 1 个仅由 10 个氨基酸组成的细胞内结构域,1 个短小的跨膜结构域和作为主要组成部分的 1 个细胞外结构域。细胞外结构域有 2 个重复序列 KL1 和 KL2 组成,它们有 28%氨基酸序列同源,每个结构域都含有与 β 葡萄糖苷酶同源的氨基酸序列(32%~40%),但他们缺乏 β 葡萄糖苷酶的生物活性^[5,6]。然而有研究报道 KL1 和 KL2 具有葡萄糖苷酶和淀粉酶相似的生物活性^[7-9]。分泌性 Klotho 蛋白由 Klotho 基因的一种可变剪接体翻译而来,可视为 KL1 结构域的一种可溶形式,该蛋白可以在胞内和胞外检测出来^[5,10]。胞膜上的 Klotho 蛋白可被裂解酶剪切并释放入血,并分布于血液、脑脊液和尿液中^[11-13]。参与 Klotho 蛋白卸离的蛋白酶主要是解聚金属基质蛋白酶 10(a disintegrin and metalloprotease 10, ADAM10)和 ADAM17。它们的功能是产生分泌型 Klotho 蛋白,包括由 KL1 和 KL2 构成完整的 Klotho 胞外结构域,亦称为可溶性 Klotho 蛋白,以及单独的 KL1 和 KL2 多肽。Klotho 在机体中被广泛的表达,其中肾远曲小管和大脑脉络丛的表达水平最高^[2]。此外,研究发现在许多内分泌器官中能检测到其低水平表达,如乳腺、胰腺和卵巢等^[14-16]。

1.2 Klotho 蛋白的生物学功能 Klotho 蛋白是个多功能蛋白,参与了多种生理病理过程:Klotho 蛋白是成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)通路的重要调节因子。FGF23 需要与成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)形成复合体以发挥其生理学作用,然而两者的亲和力较低,需要借助辅助因子即 Klotho 蛋白进行活化,研究表明后者可大大增加 FGF23 与 FGFR1、FGFR3 和 FGFR4 的亲和力^[6,17,18]。Klotho 蛋白可抑制胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1)通路^[14,19,20]。Klotho 可通过结合 Wnt 配体来抑制 Wnt 信号通路^[21,22]。Klotho 蛋白可以将钙离子通道蛋白 TRPV 募集到质膜上,提高细胞钙离子转运速率^[7]。

Klotho 蛋白在人体内的功能尚未完全明确。研究表明它与慢性肾衰竭、高血压和衰老等病理状态有关^[13,23-30]。Klotho 蛋白的活动和参与调节的信号转导通路在恶性肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用^[31]。研究发现,Klotho 蛋白在各类癌症中的表达水平较正常组织降低并与肿瘤的临床分期和病理分级呈负相关,对肿瘤的预后具有指示作用^[14,15,18,32-37]。启动子的超甲基化和组蛋白的脱乙酰化是 Klotho 基因沉默的主要机制^[12,32-34,36,38-40]。此外,Klotho 基因的沉默亦与某些 micro-RNA 有关,如 miR-504、miR-10b 和 miR-15b^[32,41,42]。另有研究表明,Klotho 基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)与肿瘤易感性有关,目前研究较多的 SNPs 有 FS52V、C370S、G395A 和 C1818T^[15,16,31,43,44]。

3 Klotho 与消化系统肿瘤

3.1 Klotho 与食管癌 食管癌是全球八大常见肿瘤之一,

我国是世界上食管癌的高发国家之一,尽管近年来中国食管癌的发病率和死亡率呈下降趋势,但其数量仍占全世界一半以上^[45,46]。对食管癌发生发展的分子机制研究对阐明食管癌发生机制、筛查高风险人群、判断预后及食管癌的基因治疗均具有重要的意义。Tang 等^[47]首次证实了 Klotho 蛋白在食管鳞状细胞癌中的低表达及其与浸润、转移和预后的相关性。通过研究 40 例食管鳞状细胞癌患者的肿瘤组织标本,该研究发现 Klotho 蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达水平显著低于癌旁组织并具有统计学意义,且其表达与 TNM 分期、浸润深度明显相关。血清 ELISA 法测定显示食管鳞状细胞癌患者组 Klotho 蛋白水平显著高于对照组。此外,作者探讨了 Klotho 蛋白与 β -链蛋白(β -catenin)在食管鳞状细胞癌中表达的相关性,并发现两者的表达水平呈负相关,提示两者在食管鳞状细胞癌发生过程中起相反作用。可见 Klotho 蛋白可作为食管鳞状细胞癌预后早期诊断和预后的判断指标,且其与 β -catenin 的相互作用机制值得进一步研究。

3.2 Klotho 与胃癌 胃癌是全世界第 4 位常见、死亡率排第 3 位的恶性肿瘤,在我国发病率及死亡率均居前三^[1,45]。Wang 等^[36]运用蛋白质免疫印迹法检测了 22 例胃癌组织及其癌旁组织标本中 Klotho 蛋白的表达,发现胃癌组织中该蛋白表达量显著降低。进一步研究发现在胃癌细胞系中 Klotho 蛋白的表达下降,若通过质粒转染恢复 Klotho 蛋白的表达水平,胃癌细胞的生长将会受到显著抑制。后续研究通过限制性酶切分析和甲基化特异性聚合酶链反应(methylation specific PCR, MSP)发现胃癌细胞系中的 Klotho 基因启动子普遍发生超甲基化,且用 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-azacytidine, 5-AZA)去甲基化后 Klotho 基因表达显著上调。相应的,在 22 例胃癌组织中,Klotho 基因启动子甲基化比例显著高于癌旁组织,且 Klotho 基因的甲基化与预后不良明显相关。该研究揭示了 Klotho 基因可能是胃癌发生的潜在抑癌基因之一,Klotho 基因的启动子超甲基化可能是 Klotho 基因在胃癌细胞中失活的主要机制且对预后具有一定的提示作用,然而该基因抑制胃癌作用的机制和信号转导通路仍未被阐明。为此 Xie 等^[40]通过药物去甲基化和 Klotho 载体转导恢复胃癌细胞系的 Klotho 蛋白表达后发现胰岛素样生长因子-1 受体 (insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)磷酸化受到抑制,使 IRS-1/PI3K/Akt/mTOR 信号转导下调,引发胃癌细胞的凋亡和自噬,以此阐明了 Klotho 蛋白抑制胃癌发生和发展的可能机制。另外 He 等^[48]研究指出了微小 RNA 的异常表达与 Klotho 基因沉默的关系。miR-199a-5p 在胃癌组织和胃癌细胞系中表达显著升高且与胃癌的侵袭和转移性有关,通过将 Klotho 基因表达载体导入胃癌细胞系中并研究其与 miR-199a-5p 表达水平的关系发现,miR-199a-5p 的过表达可显著抑制 Klotho 基因,提示 miR-199a-5p 可能通过抑制 Klotho 基因的表达导致胃癌的发生和发展。可见 Klotho 蛋白具有成为检测和识别胃癌标志物的可能性,并为胃癌

的治疗提供了潜在的靶点。

Klotho 基因的多态性可能与胃癌易感性有关。孟庆玲等^[49]对 *Klotho* 基因启动子区 G395A 和第 4 外显子区的 C1818T 与胃癌易患性的关系进行研究,发现 G-395A 型变异可显著增加人群患胃癌的危险性。类似的,杨昀等^[50]对比了 G-395A、C1818T 和 C2298T 基因型与胃癌发病危险的关系并得出了相同的结论。G395A 位于启动子区,其突变可能对基因转录产生影响,然而这一理论仍需要进一步研究证实。

3.3 *Klotho* 蛋白与肝癌 原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的十大恶性肿瘤之一,其发病率在全球位居第 6 位,肿瘤相关的死亡人数居第 2 位,其中一半的新发病例和死亡病例出现在中国^[1, 51]。Xie 等^[37]通过分析 64 例 HCC 患者肿瘤标本发现 *Klotho* mRNA 和 *Klotho* 蛋白在肝细胞癌中的表达水平显著低于癌旁组织,表明 *Klotho* 基因同样是 HCC 的抑癌基因之一且其表达下降和甲基化水平和预后不良明显相关。在研究 *Klotho* 基因失活机制时,该研究通过硫化 PCR 检测发现 HCC 中 *Klotho* 基因启动子甲基化比例显著高于癌旁组织,且去甲基化药物地西他滨不能完全恢复 HCC 细胞系中 *Klotho* RNA 表达水平,有趣的是,采用去乙酰化药物曲古抑菌素 A 进一步处理 HCC 可使 *Klotho* 基因活性完全恢复,提示除启动子甲基化外,组蛋白乙酰化亦是 *Klotho* 基因在 HCC 中失活的机制之一,这一发现为治疗 HCC 提供了新的方向,然而 *Klotho* 基因抑制 HCC 的机制和涉及的信号通路仍未明确。为此 Shu 等^[52]研究发现,将 *Klotho* 基因表达载体导入 HCC 细胞系后发现经典的细胞自噬与凋亡标志物微管相关蛋白轻链 3-I/II 表达量发生上调,此外在有外源性 *Klotho* 基因表达的 HCC 细胞系中 IGF-1R、Akt 和 p70S6K 的磷酸化水平显著降低,提示 *Klotho* 蛋白可能通过抑制 IGF-1R 的磷酸化使得 IGF-1R/Akt/mTOR 信号通路受到抑制,其下游产物 p70S6K 磷酸化减少,从而引起 HCC 的凋亡和自噬,证实了 *Klotho* 蛋白通过抑制这一通路对 HCC 发挥抑癌作用。Sun 等^[53]发现,在导入了 *Klotho* 表达载体的 HCC 细胞系中, Wnt/catenin- β 的下游信号因子 β -catenin、C-myc 和细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)的表达水平显著低于对照组,且经过 10 d 培养之后其细胞克隆数亦显著少于对照组,表明 *Klotho* 蛋白可通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路来抑制肝癌细胞的增值^[53]。上述研究均得出了 *Klotho* 基因在 HCC 中作为抑癌基因并通过下调经典的信号通路发挥抑癌作用。然而 Chen 等^[54]在 52 例肝癌病人的随访观察中,发现 *Klotho* 蛋白的免疫组化染色水平与肝硬化、肿瘤多发率和肿瘤静脉侵犯相关,生存曲线分析表明 *Klotho* 蛋白过表达患者平均生存率显著低于 *Klotho* 蛋白低表达者,提示 *Klotho* 蛋白的表达可促进 HCC 的发展;此外,在 *Klotho* 蛋白高表达的肝癌细胞系中,血管内皮细胞生长因子受体 1(vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1)和 P21 蛋白激活激酶 1(p21-activated kinase 1,

PAK1) 水平显著上调,通过敲除 *Klotho* 基因或使用 VEGFR2 抑制剂阿西替尼和 PAK1 别构抑制剂 IPA3 均可剥夺 HCC 细胞系的失巢凋亡抵抗(anoikis resistance, AR)和非锚定依赖生长能力(anchorage-independent growth, AIG),证明 *Klotho* 蛋白可能通过激活 VEGFR2/PAK1 通路使 HCC 细胞获得 AR 和 AIG 的能力,从而促进肿瘤转移。这一效应与上述其他研究中报道的 *Klotho* 蛋白抑制 HCC 作用相反,可能与其结构及参与信号通路的复杂性有关。可见 *Klotho* 蛋白在 HCC 的发生发展中所起的具体作用尚未被完全阐明,后续研究应深入探讨 *Klotho* 蛋白作用的两面性。

3.4 *Klotho* 蛋白与结直肠癌 结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)的发病率和死亡率均位居全球前三,是引起死亡的主要疾病之一,其早期筛查、诊断和治疗具有重大意义^[1]。Pan 等^[33]使用逆转录聚合酶链反应(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)发现 *Klotho* 基因的 mRNA 在结直肠癌细胞系中发生表达缺损或减少,且在 25 例结直肠癌组织中的表达水平较癌旁组织显著降低。通过将 *Klotho* 基因表达载体导入 CRC 细胞系中发现,外源性 *Klotho* 基因的表达可使 CRC 细胞系的增殖受到明显抑制,提示 *Klotho* 基因是结直肠癌潜在的抑癌基因。对 40 例结直肠癌标本进行 MSP 发现 34 例出现 *Klotho* 基因启动子甲基化;对 CRC 细胞系使用 5-AZA 去甲基化后可恢复 *Klotho* 基因的 mRNA 的表达水平,证实了 *Klotho* 基因启动子甲基化使 *Klotho* 蛋白表达下调同样存在于 CRC 中。为探索 *Klotho* 基因在 CRC 中的抑癌机制, Li 等^[55]使用慢病毒作为 *Klotho* 基因载体对 CRC 细胞系进行转染后用 RT-PCR 和蛋白质免疫印迹法进行分析发现 *Klotho* 基因的 mRNA 水平发生上调而 p-IGF1R、p-PI3K 和 p-AKT 水平下降,提示 *Klotho* 蛋白可通过抑制 IGF1R-PI3K/AKT 通路抑制 CRC 的发生和发展;此外,作为 IGF1R-PI3K/AKT 通路的产物,增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)和基质金属蛋白酶-2 分别是 CRC 细胞维持增殖的标志物和促进侵袭、转移的 IV 型胶原蛋白酶,这些产物亦在 *Klotho* 基因表达的 CRC 细胞系中发生相应下降,进一步揭示了 *Klotho* 蛋白通过 IGF1R-PI3K/AKT 通路抑制结直肠癌的作用机制,然而 *Klotho* 蛋白在该通路中具体的作用靶点还有待发现。另一方面, Li 等^[56]认为 *Klotho* 蛋白可通过抑制结直肠癌细胞的有氧糖酵解发挥抑癌作用。该研究通过对 CRC 患者进行术前 PET-CT 检查和术后肿瘤标本的 *Klotho* 蛋白免疫组化发现, CRC 组织的糖代谢强度与 *Klotho* 蛋白表达程度呈负相关,且在慢病毒介导的 *Klotho* 蛋白过表达 CRC 细胞系中,葡萄糖摄入、乳酸生成和 ATP 产生较对照组下降,而氧摄入率升高;通过测定缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)在 CRC 细胞系中的水平发现其与 *Klotho* 蛋白表达呈反相关,其下游调节产物葡萄糖转运蛋白 1(glucose transporter type 1, GLUT1)、己糖激酶 2(hexokinase 2, HK2)和乳酸脱氢酶 A(lactate dehydrogenase A, LDHA)亦随 *Klotho* 蛋白的表达而

下降,证实 Klotho 蛋白对 CRC 肿瘤细胞的有氧酵解具有抑制作用,且 Klotho 蛋白可能通过调节 HIF-1 α 调节 CRC 有氧糖酵解。由于细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)的激活对维持 HIF-1 α 具有重要作用,通过诱导 ERK-MARK (microtubule affinity-regulating kinase, 微管亲和性调控蛋白激酶) 激酶 ERK2E332K 过表达使 Klotho 蛋白对肿瘤细胞有氧糖酵解的抑制作用得到削弱,提示 Klotho 蛋白通过抑制 ERK/HIF1 α 现对 CRC 有氧糖酵解的负性调节。未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)的激活可使肿瘤细胞的生长受到抑制,Arbel 等^[57]将 Klotho 基因表达载体接入 CRC 细胞系后测定发现,UPR 相关基因 *CHOP*、*HERP*、*DNAJB9* 和 *GRP78* 表达上调,且 UPR 的标志物 XBP1 的 mRNA 水平上升,这些细胞系的克隆数量较对照组下降;相应的,若使用 UPR 抑制剂牛磺熊去氧胆酸或使 *CHOP* 沉默的 shRNA 则可逆转 Klotho 基因对 CRC 的抑制效应,提示 Klotho 基因可能通过激活 UPR 抑制 CRC 细胞生长,这为治疗 CRC 提供了一条新的信号通路^[58]。Klotho 基因对结直肠癌起抑癌基因的作用,其作用机制涉及了多条信号转导通路,且仍有其他可能存在的分子生物学机制仍未探明,但目前未有针对这些信号转导通路设计出的靶向药物问世,意味着针对 Klotho 基因治疗结直肠癌的研究仍具有巨大的前景。

3.5 Klotho 与胰腺癌 胰腺癌是恶性程度极高的消化系统肿瘤,其5年生存率仅为7%,其死亡率在各大恶性肿瘤中居首位^[58]。Abramovitz 等^[14]通过 Klotho 表达载体导入胰腺癌细胞系中发现, Klotho 基因的表达可减少胰腺癌细胞的克隆数并抑制其非锚定依赖生长;通过对胰腺癌裸鼠模型进行腹膜下注射 Klotho 基因载体和可溶性 Klotho 蛋白可使肿瘤体积明显缩小,可见 Klotho 基因对体外和在体的胰腺癌细胞均有抑制作用。为进一步探讨 Klotho 基因抑制胰腺癌的作用机制,作者将 IGF-1 或 bFGF 蛋白作用于载体介导表达 Klotho 基因的胰腺癌细胞系,并使用蛋白质免疫印迹法测定 IGF-1 和 bFGF 通路下游产物水平,发现两条通路的下游产物胰岛素受体底物-1、蛋白激酶 B1 和 ERK1/2 表达均低于对照组,提示 Klotho 蛋白可能通过抑制 IGF-1 和 bFGF 通路的激活发挥抑制胰腺癌细胞的生长。有趣的是,在对比了 Klotho 蛋白结构域 KL1 和完整 Klotho 蛋白对胰腺癌裸鼠模型的作用效果后,作者发现 KL1 对肿瘤生长的抑制效果与 Klotho 蛋白相似,但不会引起血清胆固醇、磷酸盐和血糖的升高,提示 KL1 安全性优于 Klotho 蛋白。可见, Klotho 蛋白对胰腺癌的抑制作用明确,其作为治疗胰腺癌的手段具有较大的前景。

4 小结

综上所述, Klotho 基因作为一多功能抗衰老基因在多数消化道恶性肿瘤中异常表达,提示其具有抑癌因子作用,通过参与多种信号途径,对消化系统肿瘤的发生和发

展起调节作用。但目前关于 Klotho 基因在消化系统中作用的研究报道仍尚少,有待进一步探索其作用机制。Klotho 基因的应用前景可以是甲基化 Klotho 基因作为早期诊断和预后判断的生物学指标,亦可根据其涉及的信号通路研发抑制肿瘤的增殖和迁移,促进凋亡的相关药物,或者提纯可溶性 Klotho 蛋白制备新型肿瘤生物制剂。然而 Klotho 基因是否也是一种原癌基因,与消化系统各种肿瘤的具体关系,以及 Klotho 蛋白能否作为一种特异性与灵敏度均较好的血清学生物标志物用于消化系统肿瘤的早期诊断,为消化系统肿瘤侵袭转移的防治提供新思路 and 新的干预环节等许多问题仍需要深入研究。我们相信,随着对 Klotho 基因研究的逐步深入,以及对其在消化系统肿瘤的发生、发展、转移过程中作用机制的进一步认识, Klotho 基因必将在肿瘤诊断、治疗及其他领域得到更加广泛的应用。

参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [2] 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.
- [3] ITO S, FUJIMORI T, HAYASHIZAKI Y, et al. Identification of a novel mouse membrane-bound family 1 glycosidase-like protein, which carries an atypical active site structure [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1576(3):341-345.
- [4] ITO S, KINOSHITA S, SHIRAIISHI 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.
- [5] 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.
- [6] KUROSU H, OGAWA Y, MIYOSHI M, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho [J]. J Biol Chem, 2006, 281(10):6120-6123.
- [7] CHA S K, ORTEGA B, KUROSU H, et al. Removal of sialic acid involving Klotho causes cell-surface retention of TRPV5 channel via binding to galectin-1 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(28):9805-9810.
- [8] CHANG Q, HOEFS S, VAN DER KEMP A W, et al. The beta-glucuronidase klotho hydrolyzes and activates the TRPV5 channel [J]. Science, 2005, 310(5747):490-493.
- [9] TOHYAMA O, IMURA A, IWANO A, et al. Klotho is a novel beta-glucuronidase capable of hydrolyzing steroid beta-glucuronides [J]. J Biol Chem, 2004, 279(11):9777-9784.
- [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.

- [11] HU M C, SHI M, ZHANG J, et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(1):124-136.
- [12] IMURA A, IWANO A, 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):143-147.
- [13] YAMAZAKI Y, IMURA A, URAKAWA I, et al. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398(3):513-518.
- [14] ABRAMOVITZ L, RUBINEK T, LIGUMSKY H, et al. KLI internal repeat mediates klotho tumor suppressor activities and inhibits bFGF and IGF-I signaling in pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(13):4254-4266.
- [15] LOJKIN I, RUBINEK T, ORSULIC S, et al. Reduced expression and growth inhibitory activity of the aging suppressor klotho in epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Lett*, 2015, 362(2):149-157.
- [16] WOLF I, LAITMAN Y, RUBINEK T, et al. Functional variant of KLOTHO: a breast cancer risk modifier among BRCA1 mutation carriers of Ashkenazi origin [J]. *Oncogene*, 2010, 29(1):26-33.
- [17] CHEN G, LIU Y, GOETZ R, et al. alpha-Klotho is a non-enzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signalling [J]. *Nature*, 2018, 553(7689):461-466.
- [18] URAKAWA I, YAMAZAKI Y, SHIMADA T, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23 [J]. *Nature*, 2006, 444(7120):770-774.
- [19] KUROSU H, YAMAMOTO M, CLARK J D, et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho [J]. *Science*, 2005, 309(5742):1829-1833.
- [20] WOLF I, LEVANON-COHEN S, BOSE S, et al. Klotho: a tumor suppressor and a modulator of the IGF-1 and FGF pathways in human breast cancer [J]. *Oncogene*, 2008, 27(56):7094-7105.
- [21] LIU H, FERGUSON M M, CASTILHO R M, et al. Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging [J]. *Science*, 2007, 317(5839):803-806.
- [22] WANG Y, SUN Z. Current understanding of klotho [J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8(1):43-51.
- [23] ARKING D E, KREBSOVA A, MACEK M S, et al. Association of human aging with a functional variant of klotho [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(2):856-861.
- [24] KAMARI Y, FINGRUT O, SHAISH A, et al. The Effect of Klotho Treatment on Atherogenesis, Blood Pressure, and Metabolic Parameters in Experimental Rodent Models [J]. *Horm Metab Res*, 2016, 48(3):196-200.
- [25] KOH N, FUJIMORI T, NISHIGUCHI S, et al. Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 280(4):1015-1020.
- [26] KUWAHARA N, SASAKI S, KOBARA M, et al. HMG-CoA reductase inhibition improves anti-aging klotho protein expression and arteriosclerosis in rats with chronic inhibition of nitric oxide synthesis [J]. *Int J Cardiol*, 2008, 123(2):84-90.
- [27] OGURO R, KAMIDE K, KOKUBO Y, et al. Association of carotid atherosclerosis with genetic polymorphisms of the klotho gene in patients with hypertension [J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2010, 10(4):311-318.
- [28] SAITO Y, NAKAMURA T, OHYAMA Y, et al. In vivo klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276(2):767-772.
- [29] SEMBA R D, CAPPOLA A R, SUN K, et al. Plasma klotho and mortality risk in older community-dwelling adults [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2011, 66(7):794-800.
- [30] WANG Y, SUN Z. Klotho gene delivery prevents the progression of spontaneous hypertension and renal damage [J]. *Hypertension*, 2009, 54(4):810-817.
- [31] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.
- [32] JIANG B, GU Y, CHEN Y. Identification of novel predictive markers for the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Cancer Invest*, 2014, 32(6):218-225.
- [33] PAN J, ZHONG J, GAN L H, et al. Klotho, an anti-senescence related gene, is frequently inactivated through promoter hypermethylation in colorectal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(4):729-735.
- [34] RUBINEK T, SHULMAN M, ISRAELI S, et al. Epigenetic silencing of the tumor suppressor klotho in human breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 133(2):649-657.
- [35] TANG X, WANG Y, FAN Z, et al. Klotho: a tumor suppressor and modulator of the Wnt/beta-catenin pathway in human hepatocellular carcinoma [J]. *Lab Invest*, 2016, 96(2):197-205.
- [36] WANG L, WANG X, WANG X, et al. Klotho is silenced through promoter hypermethylation in gastric cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2011, 1(1):111-119.
- [37] XIE B, ZHOU J, YUAN L, et al. Epigenetic silencing of Klotho expression correlates with poor prognosis of human hepatocellular carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(5):795-801.
- [38] LEE J, JEONG D J, KIM J, et al. The anti-aging gene KLOTHO is a novel target for epigenetic silencing in human cervical carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9:109.
- [39] SHARMA S, KELLY T K, JONES P A. Epigenetics in cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(1):27-36.
- [40] XIE B, ZHOU J, SHU G, et al. Restoration of klotho gene expression induces apoptosis and autophagy in gastric cancer cells: tumor suppressive role of klotho in gastric cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2013, 13(1):18.
- [41] HUANG J, SUN C, WANG S, et al. microRNA miR-10 b

- inhibition reduces cell proliferation and promotes apoptosis in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells [J]. Mol Biosyst, 2015,11(7):2051-2059.
- [42] LI J, CHEN Y, GUO X, et al. Inhibition of miR-15 b decreases cell migration and metastasis in colorectal cancer [J]. Tumour Biol, 2016,37(7):8765-8773.
- [43] KIM H J, LEE J, LEE S Y, et al. The association between KL polymorphism and prostate cancer risk in Korean patients [J]. Mol Biol Rep, 2014,41(11):7595-7606.
- [44] LIU C, CUI W, WANG L, et al. Klotho gene polymorphisms are related to colorectal cancer susceptibility [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(6):7446-7449.
- [45] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016,66(2):115-132.
- [46] TODD A, GROUNDWATER P W, GILL J H. The Global Burden of Cancer [M]. John Wiley & Sons, Ltd, 2017.
- [47] TANG X, FAN Z, WANG Y, et al. Expression of klotho and beta-catenin in esophageal squamous cell carcinoma, and their clinicopathological and prognostic significance [J]. Dis Esophagus, 2016,29(3):207-214.
- [48] HE X J, MA Y Y, YU S, et al. Up-regulated miR-199 a-5 p in gastric cancer functions as an oncogene and targets klotho [J]. BMC Cancer, 2014,14:218.
- [49] 孟庆玲, 黄曙, 季国忠, 等. Klotho 基因 G-395A 和 C1818T 多态性与胃癌遗传易感性的研究 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(10):1258-1262.
- [50] 杨昀, 黄曙, 季国忠. Klotho 基因 3 个多态性位点与胃癌遗传易感性的相关性研究 [J]. 医学研究生学报, 2013, 26(6): 585-588.
- [51] MAZZANTI R, ARENA U, TASSI R. Hepatocellular carcinoma: Where are we? [J]. World J Exp Med, 2016, 6(1):21-36.
- [52] SHU G, XIE B, REN F, et al. Restoration of klotho expression induces apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma cells [J]. Cell Oncol (Dordr), 2013, 36(2):121-129.
- [53] SUN H, GAO Y, LU K, et al. Overexpression of Klotho suppresses liver cancer progression and induces cell apoptosis by negatively regulating wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. World J Surg Oncol, 2015, 13:307.
- [54] CHEN L, LIU H, LIU J, et al. Klotho endows hepatoma cells with resistance to anoikis via VEGFR2/PAK1 activation in hepatocellular carcinoma [J]. PLoS One, 2013, 8(3):e58413.
- [55] LI X X, HUANG L Y, PENG J J, et al. Klotho suppresses growth and invasion of colon cancer cells through inhibition of IGF1R-mediated PI3K/AKT pathway [J]. Int J Oncol, 2014, 45(2):611-618.
- [56] LI Q, LI Y, LIANG L, et al. Klotho negatively regulated aerobic glycolysis in colorectal cancer via ERK/HIF1 alpha axis [J]. Cell Commun Signal, 2018, 16(1):26.
- [57] ARBEL R T, SHAHMOON S, ZIGMOND E, et al. Klotho suppresses colorectal cancer through modulation of the unfolded protein response [J]. Oncogene, 2019, 38(6):794-807.
- [58] RYAN D P, HONG T S, BARDEESY N. Pancreatic adenocarcinoma [J]. N Engl J Med, 2014, 371(11):1039-1049.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊最新出版发行情况说明

《消化肿瘤杂志(电子版)》(国际标准连续出版物号 ISSN 1674-7402, 国内统一连续出版物号 CN 11-9301/R)是国家卫生健康委员会主管、人民卫生出版社有限公司主办的消化肿瘤专业电子学术期刊。本刊目前为中国科技核心期刊被《中国科技论文统计源期刊》《中国核心期刊(遴选)数据库》《中国学术期刊网络出版总库》《中文科技期刊数据库》全文收录。本刊旨在为广大医务工作者提供了一个优秀的专业论文发表和交流平台。本刊每年主办或参与举办的全国性和区域性大型学术会议达 10 余次, 大大促进了消化肿瘤学术领域的交流, 同时出版发行量大、覆盖范围广, 在国内具有一定的影响力。欢迎各位同仁向本刊投稿, 同时欢迎订阅。