

DOI: 10.13376/j.cblls/2019016

文章编号: 1004-0374(2019)01-0106-05

# $\alpha$ -Klotho的作用及其与运动/体力活动的关系

李安康, 左 群\*

(上海体育学院运动科学学院, 上海 200438)

**摘要:** *Klotho* 是一种抗衰老基因, 具有调节代谢稳态、抗氧化应激和细胞凋亡、保护血管内皮、预防和改善心血管疾病及肾脏疾病等作用。运动 / 体力活动的抗衰老及改善疾病的作用已被大量研究所证明。*Klotho* 和运动 / 体力活动对衰老及衰老相关疾病的调控存在许多重叠之处, 两者之间是否有相关性, 其可能存在哪些机制, 现就这些研究做一综述。

**关键词:** *Klotho*; 运动 / 体力活动; 衰老

**中图分类号:** R332; R335; G804.2 **文献标志码:** A

## The role of $\alpha$ -Klotho and its relationship with exercise/physical activity

LI An-Kang, ZUO Qun\*

(School of Sports Science, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

**Abstract:** *Klotho* is an anti-aging gene that regulates metabolic homeostasis, antioxidant stress and cell apoptosis, protects vascular endothelium, prevents and improves cardiovascular and renal diseases. The role of exercise/physical activity in anti-aging and improving the disease has been demonstrated by numerous studies. There are many overlaps between *Klotho* and exercise/physical activity on the regulation of aging and aging-related diseases. Are there any correlations between them, and what are the possible mechanisms? This article reviews these studies.

**Key words:** *Klotho*; exercise / physical activity; aging

随着老龄化的发展, 衰老以及慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD)、心血管疾病等衰老相关疾病将对社会造成严重的经济负担和极大的资源浪费。因此, 研究如何延缓衰老、预防和改善衰老相关疾病已成为重中之重。而运动 / 体力活动因其经济且有效性正逐渐成为干预衰老及衰老相关疾病的重要方式, 但是对于运动 / 体力活动发挥作用的细胞和分子机制目前还未充分了解。对于其作用机制了解的不足阻碍了运动 / 体力活动在延缓衰老、预防和治疗慢性病领域的发展。本文希望通过对抗衰老基因 *Klotho* 的作用以及它和运动 / 体力活动关系的介绍, 为运动 / 体力活动延缓衰老、预防及改善相关疾病的机制提出一种新思路。

### 1 $\alpha$ -Klotho概述

*Klotho* (KL) 基因首次由日本学者 Kuro-o 等<sup>[1]</sup>于 1997 年发现, 目前已鉴定出两种 *Klotho*, 分别

是  $\alpha$  和  $\beta$  的同系物, 本文主要介绍  $\alpha$ -*Klotho* 同系物。小鼠 *Klotho* 基因 5' 端区域的一个插入突变导致类似于人类衰老的综合征, 包括整体寿命缩短、不育、动脉硬化、皮肤萎缩、骨质疏松症、严重高磷酸盐血症、软组织钙化、运动障碍、步态紊乱等<sup>[1]</sup>。而小鼠  $\alpha$ -*Klotho* 基因的过度表达延缓了衰老过程并延长寿命 20%~30%<sup>[2]</sup>, 提示  $\alpha$ -*Klotho* 基因在衰老过程的调控中可能发挥重要作用。

$\alpha$ -*Klotho* 主要在肾脏、甲状旁腺和脑脉络丛中表达<sup>[2]</sup>。 $\alpha$ -*Klotho* 与心血管疾病、肾脏疾病、糖尿病等多种病症密切相关, 也是当前研究的热点。目

收稿日期: 2018-07-25; 修回日期: 2018-08-20

基金项目: 上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院)项目(11DZ2261100)

\*通信作者: E-mail: zq2018@sus.edu.cn; Tel: 021-65507363

前发现 3 种类型的  $\alpha$ -Klotho: 跨膜型 (transmembrane  $\alpha$ -Klotho, full-length transmembrane  $\alpha$ -Klotho)、可溶型 (soluble  $\alpha$ -Klotho) 和分泌型 (secreted  $\alpha$ -Klotho)。可溶型  $\alpha$ -Klotho 通过相关酶切割跨膜  $\alpha$ -Klotho 的细胞外结构产生; 而分泌型  $\alpha$ -Klotho 则通过  $\alpha$ -Klotho mRNA 选择性剪接产生<sup>[3]</sup>。一般将可溶型  $\alpha$ -Klotho 和分泌型  $\alpha$ -Klotho 共同称为  $\alpha$ -Klotho 的循环形式, 循环 Klotho 可能作为激素调节不表达 Klotho 的细胞或组织的功能, 这部分解释了为什么  $\alpha$ -Klotho 基因仅在少数组织 (例如肾和脑脉络丛) 中表达, 其突变却能造成广泛的衰老表型。

## 2 $\alpha$ -Klotho的作用及其机制

$\alpha$ -Klotho 的作用机制主要涉及抑制胰岛素 / 胰岛素样生长因子 1 信号转导途径、调节钙磷代谢、抑制 Wnt 信号、抗氧化应激等方面。首先, 令人诧异的是许多研究显示, 阻断  $\alpha$ -Klotho 表达可降低胰岛素的产生并增加胰岛素敏感性<sup>[4]</sup>。 $\alpha$ -Klotho 能够抑制胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS) 和胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R) 的下游信号转导途径而不直接与这些受体结合<sup>[2]</sup>, 但其调节机制仍不清楚, 可能与叉头框蛋白 Os (forkhead box protein Os, Fox Os) 家族有关, 活化的 IRS 导致下游磷脂酰肌醇-3 激酶 / 蛋白激酶 B (phosphoinositide-3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号转导途径的激活以及 Fox O1、Fox O3a 和 Fox O4 的磷酸化。磷酸化的 Fox Os 保留在细胞质而不是细胞核中, 导致其丧失转录活性。

$\alpha$ -Klotho 调节钙磷代谢的作用主要与成纤维细胞生长因子 23 (fibroblast growth factor 23, FGF23) 有关。FGF23 是肾脏代谢磷的关键激素, 但 FGF23 与其受体的亲和力很低, 这一现象一度令人困扰, 直到  $\alpha$ -Klotho 的功能被发现。研究发现, 跨膜型  $\alpha$ -Klotho 结合 FGF23 与 FGFRs 以增强 FGF23 与受体的结合能力。FGF23-Klotho 信号通过内化钠依赖性磷酸盐协同转运蛋白 Napi2a 和 Napi2c 抑制肾脏磷酸盐重吸收, 并通过改变维生素 D 代谢酶 CYP27b1 和 CYP24a1 抑制 1,25-二羟维生素 D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] 合成<sup>[3]</sup>。Olsson 等<sup>[5]</sup>建立的一种小鼠模型也显示了 Klotho 对肾矿物质代谢稳态的重要调节作用及对 FGF23 的影响。该模型具有肾特异性的 Klotho 部分缺失, 使得研究者们能够分析 Klotho 缺失量的不同所产生的不同影响, 同时, 也能够分别分析 Klotho 表达降低所产生的局部与全身

影响。该研究显示小鼠肾远端小管的 Klotho 部分缺失对其生存能力、繁殖力或总表型没有显著影响, 也没有肾纤维化、血管钙化等问题发生, 但这种小鼠具有较高的血清 FGF23 水平, 高磷酸盐血症, 刷状缘膜钠依赖性磷酸转运蛋白 Npt2a 表达增加, 维生素 D 受体及相关调节酶上调, 甲状旁腺激素水平下降等表现<sup>[5]</sup>。该研究也为之后利用类似的特异性缺失模型来研究 Klotho 在衰老、骨健康、心血管健康等方面的影响提供了启示。2018 年, Chen 等<sup>[6]</sup>研究显示, 可溶型  $\alpha$ -Klotho 可能作为促进 FGF23 信号转导的按需非酶促支架蛋白起作用, 充当 FGF23 的辅助受体, 并确定了可溶型  $\alpha$ -Klotho、FGFR1c 配体结合结构域以及 FGF23 形成的 1:1:1 三元复合物的原子结构。在这一复合物中, 可溶型  $\alpha$ -Klotho 作为非酶促支架同时连接 FGFR1c 和 FGF23 以实现 FGF23-FGFR1c 接近并保持稳定, 从而增强 FGF23-FGFR1c 结合亲和力<sup>[6]</sup>。与之前的外源性可溶型  $\alpha$ -Klotho 降低高磷酸盐血症和血管钙化的研究结果一致<sup>[7]</sup>。由于高磷血症与维生素 D 过多被认为是促进衰老的主要原因<sup>[8]</sup>, 有研究者提出,  $\alpha$ -Klotho 的多种抗衰老作用都依赖于 FGF23。

Klotho 与肾脏疾病的关系一直是人们研究的重点。Zhou 等<sup>[9]</sup>研究表明, Klotho 表达水平在多种肾脏疾病模型中均下调, 如单侧输尿管梗阻和阿霉素诱导的模型。肾脏损伤与 Klotho 水平下降似乎形成一种恶性循环, 肾脏损伤导致 Klotho 水平下降, Klotho 水平的下降又促进了肾脏的损伤, 导致肾纤维化, 其可能与 Klotho、转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor-beta1, TGF- $\beta$ 1) 和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号的相互影响有关<sup>[10]</sup>。Zhou 等<sup>[9]</sup>的研究表明, Klotho 可能是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号的内源性拮抗剂, 缺少 Klotho 可能通过减弱对致病性 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号的抑制导致肾脏损伤。通过与多种 Wnt 配体结合, Klotho 阻断 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导和其下游促纤维化基因的表达, 如 Snail1、PAI-1。而 Klotho 与 TGF- $\beta$ 1 的相互对抗也十分有趣, 在肾脏疾病中 TGF- $\beta$ 1 显著抑制 Klotho 并激活  $\beta$ -catenin, 而过表达 Klotho 能够充分抑制 TGF- $\beta$ 1 介导的  $\beta$ -catenin 激活以及随后的促纤维化基因的表达。这种相互抑制意味着如果 Klotho 表达减弱会导致一种 Klotho 减少而 TGF- $\beta$ 1/ $\beta$ -catenin 激活增加的恶性循环<sup>[9]</sup>。另外, 该研究首次证实在肾脏病变已经建立的情况下, 外源性补充 Klotho 仍是有效的治疗方法, 且外源性补充 Klotho 还能诱导和恢复体内内源性 Klotho 的

表达,其作用可能与外源性 Klotho 抑制 TGF- $\beta$ 1 介导的对原有 Klotho 的抑制有关<sup>[9]</sup>。2017年, Hu 等<sup>[11]</sup>研究也证实了外源性重组  $\alpha$ -Klotho 可能是预防和治疗急性肾病向慢性肾病转化过程及尿毒症性心肌病的有效选择,且外源性  $\alpha$ -Klotho 治疗能在治疗停止后长时间内恢复内源性  $\alpha$ -Klotho 水平。

除了上调一氧化氮(NO)的产生<sup>[12]</sup>外, Klotho 保护血管动脉的作用常常与其抗氧化应激能力联系起来, Lim 等<sup>[13]</sup>报道了人体内动脉及体外人主动脉平滑肌细胞中内源性 Klotho 的表达,而近年也有关于 Klotho 在人主动脉平滑肌细胞中诱导抗氧化防御的报道<sup>[14-15]</sup>。Lim 等<sup>[16]</sup>研究表明,  $\alpha$ -Klotho 能够通过负调节 PI3K/AKT 信号通路增强 FoxO3a 介导的锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)的表达,而 MnSOD 是哺乳动物细胞中线粒体抗氧化的关键酶之一。FOXO3a 是线粒体活性氧簇(mitochondrial reactive oxygen species, mROS)产生的负调控因子。Wang 等<sup>[17]</sup>的研究显示, Klotho 通过环腺苷酸-蛋白激酶 A(cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A, cAMP-PKA) 通路调控还原型辅酶 II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶 2 蛋白表达,抑制血管紧张素 II 诱导的超氧化物生成、氧化损伤和细胞凋亡。Klotho 保护血管内皮的功能显示其与心血管疾病也有密切的联系。Gao 等<sup>[18]</sup>研究表明,主动脉僵硬和高血压与人体循环 Klotho 水平显著降低有关,并在动物模型中进一步证实 Klotho 缺乏可能是动脉硬化和高血压发病的重要因素。其与另一关于高脂饮食诱导的动脉硬化和高血压的研究结果相一致<sup>[19]</sup>。研究还表明,可溶性 Klotho 的稳定递送能够缓解慢性高磷血症和血管钙化<sup>[7]</sup>。除此之外, Xie 等<sup>[20]</sup>研究显示,循环系统中的可溶型 Klotho 通过阻断经典瞬时受体电位 6 型通道(transient receptor potential canonical, TRPC6)的 PI3K 依赖性胞吐作用抑制心肌细胞中的 TRPC6,从而保护心脏免受应激引起的心脏肥大和重塑,而可溶型 Klotho 水平降低会促进慢性肾脏病患者心脏肥大的病理形成。衰老增加内毒素性心脏功能障碍与 Klotho 表达降低有关,用重组 Klotho 进行后处理可抑制老化内毒素血症小鼠的炎症反应并改善心脏功能<sup>[21]</sup>。Klotho 与心血管疾病的关系也是人们研究的重点。

另外,曾经有一段时间  $\alpha$ -Klotho 被认为不在成骨细胞与骨细胞中表达,但之后一项研究证实了有  $\alpha$ -Klotho 转录物在骨细胞和成骨细胞中被检测到,

尽管其含量相比肾脏要小得多。2017年, Komaba 等<sup>[22]</sup>建立了一种骨细胞特异性 Klotho 基因缺失的小鼠模型,该模型小鼠具有正常的肾脏和甲状腺 Klotho 表达。令人惊讶的是,与全身 Klotho 缺失小鼠的骨质疏松形成鲜明对比,骨细胞特异性 Klotho 缺失显著增加骨容量、骨形成和成骨细胞活性。该实验显示了一种 Klotho 参与骨代谢的新的机制,引起许多研究者的兴趣。

### 3 $\alpha$ -Klotho与运动/体力活动的相关性

上文已充分表明,  $\alpha$ -Klotho 在肾脏疾病、心血管疾病的发生发展中发挥的重要作用。而同样地,多项研究表明运动/体力活动也能够抑制心血管疾病和慢性肾病的发展并改善预后<sup>[12, 23]</sup>,且在改善糖尿病方面两者的作用也一致。除此之外,有研究通过大量搜集并对比有关  $\alpha$ -Klotho 和运动/体力活动对步态功能、骨质疏松、认知功能、血管生成、组织再生及抗氧化应激等方面影响的文献,发现  $\alpha$ -Klotho 和运动/体力活动对这些方面的作用出奇的一致<sup>[24]</sup>。例如,高水平的 Klotho 和体能的改善与较好的步态功能相关;久坐行为与心血管疾病发病率呈正相关, Klotho 基因敲除小鼠出现心血管疾病而高水平 Klotho 与较低的心血管疾病发病率相关; Klotho 水平下降及较低的体力活动与骨密度下降相关; Klotho 基因敲除小鼠出现认知功能障碍,且认知功能障碍的患者 Klotho 水平较低,而运动能够延缓或逆转衰老对认知功能的影响; Klotho 和长期运动都能够增强抗氧化应激能力等。因此,许多研究者对运动能否促进循环  $\alpha$ -Klotho 的表达进行了研究。

最早一项对 69 名健康绝经后女性血浆 Klotho 水平与有氧运动能力的相关性研究发现,血浆 Klotho 与有氧运动能力呈正相关<sup>[25]</sup>。随后该研究进行了运动干预实验,将 19 名健康绝经后女性随机分为运动组和对照组,对运动组进行了 12 周的中度有氧运动训练,结果显示,12 周有氧运动训练显著增加了血浆 Klotho 水平<sup>[25]</sup>。之后,为了探究单次剧烈运动是否也能够诱导  $\alpha$ -Klotho 的表达, Santos-Dias 等<sup>[26]</sup>测定了单次 20 min 的最大强度跑运动前后,男女两组健康人群(两组受试者都进行了至少一年的抗阻和有氧训练)血清 Klotho 水平的变化情况,结果显示女性运动后血清 Klotho 水平显著升高,而男性仅观察到有增加的趋势,其变化似乎与性别有关;但 Mostafidi 等<sup>[27]</sup>研究测定了长期

规律参加有氧运动的足球运动员与普通健康男性血清 Klotho 水平, 结果显示运动员组的血清 Klotho 水平要显著高于对照组。此外, 为探究运动、年龄和 Klotho 表达之间的关系, Avin 等<sup>[24]</sup>首先进行了动物实验, 测定一次剧烈运动对年轻和老年小鼠循环 Klotho 水平的影响, 结果显示运动后在年轻和老年小鼠中都观察到循环 Klotho 水平的显著升高, 且与年轻小鼠相比, 老年小鼠的这种反应较弱。随后该研究对是否可以在人类中观察到类似的反应进行了实验, 该实验首先测定了青年和老年的久坐妇女在完成一次剧烈有氧运动前后循环  $\alpha$ -Klotho 水平的变化, 结果显示循环  $\alpha$ -Klotho 水平变化不显著。之后研究者给两组受试者制定了为期 12~16 周的有氧运动训练计划, 在完成训练计划后再次测定两组受试者一次剧烈有氧运动前后循环  $\alpha$ -Klotho 水平变化, 结果显示, 完成剧烈运动后两组循环  $\alpha$ -Klotho 水平皆显著升高, 且老年组的升高程度较青年组低。由此可以推测, 运动可能是提升血浆  $\alpha$ -Klotho 水平的有效刺激, 其反应程度可能与体能水平及年龄有关, 不过该实验未考虑老年组绝经后激素水平与年轻组的不同, 对其结果可能有一定影响。

#### 4 运动/体力活动促进循环 $\alpha$ -Klotho表达的可能机制

目前关于运动/体力活动促进循环  $\alpha$ -Klotho 表达的机制尚无相关的研究, 本文综合目前的相关研究结果对可能存在的机制进行推测, 希望对此方面的研究能有所帮助。首先, Ling 和 Ronn<sup>[28]</sup>研究指出运动可以改变基因表达模式(表观遗传学), 规律运动被解释为一种积极的表观遗传机制, 以改变人体中全基因组 DNA 甲基化模式; 而研究发现, Klotho 基因启动子区域富含 GC 碱基, 对 DNA 甲基化敏感。有报道表明, 启动子区的甲基化状态与 Klotho mRNA 表达有关<sup>[29-30]</sup>, 表明 Klotho 活性可能受 DNA 甲基化调控。另外, 2017 年, Jung 等<sup>[31]</sup>研究也显示去甲基化可能是介导某些小分子化合物诱导 Klotho 表达的重要分子机制, 以及某些化合物(如大黄酸)通过启动子去甲基化逆转 Klotho 抑制, 防止慢性肾脏疾病小鼠的肾脏和骨损伤<sup>[32]</sup>。因此, 运动有可能通过 DNA 甲基化调控 Klotho 的表达。第二, 运动/体力活动促进循环  $\alpha$ -Klotho 表达可能与过氧化物酶体增殖激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ ) 有关。Thomas 等<sup>[33]</sup>研究显示, 运动能够促进 PPAR $\gamma$  配体的产生, 激

活 PPAR $\gamma$  信号并上调 PPAR $\gamma$  调控的部分基因的表达, 对人体产生有益作用。而 Klotho 是 PPAR $\gamma$  的下游基因, PPAR $\gamma$  能够在小鼠肾脏中促进  $\alpha$ -Klotho 的表达<sup>[34]</sup>, 且 Lin 等<sup>[35]</sup>研究表明, 通过 PPAR $\gamma$  的乙酰化能够促进 CKD 中肾脏 Klotho 表达的恢复。第三, 运动/体力活动促进循环  $\alpha$ -Klotho 表达可能与维生素 D 受体有关。有研究表明, 在 CKD 中使用维生素 D 受体激动剂 (vitamin D receptor agonist, VDRAs) 的治疗促进 Klotho 和骨桥蛋白的表达, 且这种作用独立于血清甲状旁腺激素和钙的变化<sup>[36]</sup>, 合适的治疗剂量的 VDR 激活剂能够通过增加血管 Klotho 表达介导血管保护<sup>[13]</sup>; 而 Makanae 等<sup>[37]</sup>研究表明, 急性抗阻运动能够有效促进大鼠骨骼肌中维生素 D 受体蛋白的表达, 那么运动是否能够通过维生素 D 受体激动剂 (VDRAs) 相似的途径促进 Klotho 的表达, 未来可以就这方面进行研究。不过该研究同时表示, 没有发现耐力运动有促进维生素 D 受体蛋白表达的作用, 似乎与长期有氧运动促进血清 Klotho 水平的研究不符。其或许与该研究只测定了骨骼肌中维生素 D 受体蛋白的表达有关。未来研究可以测定运动对其他组织如肾脏维生素 D 受体蛋白表达的影响。

#### 5 结语

综上所述, 运动/体力活动能够促进循环  $\alpha$ -Klotho 的表达。而循环  $\alpha$ -Klotho 表达的提高能够通过其对胰岛素/IGF-1 信号转导途径、Wnt/ $\beta$ -catenin 信号和 TGF- $\beta$ 1 的抑制, 对钙、磷和维生素 D 代谢的调控, 促进抗氧化应激能力等方面起到延缓衰老, 预防和改善衰老相关疾病等作用。运动可能正是通过诱导  $\alpha$ -Klotho 的表达, 发挥多种促进机体健康的作用, 但通过运动/体力活动促进循环  $\alpha$ -Klotho 表达的机制和效果尚无研究报道, 需要在未来进行更多的实验研究。

#### [参 考 文 献]

- [1] Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 1997, 390: 45-51
- [2] Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science*, 2005, 309: 1829-33
- [3] Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging. *Endocr Rev*, 2015, 36: 174-93
- [4] Lorenzi O, Veyrat-Durebex C, Wollheim CB, et al. Evidence against a direct role of klotho in insulin

- resistance. *Pflugers Arch*, 2010, 459: 465-73
- [5] Olauson H, Lindberg K, Amin R, et al. Targeted deletion of Klotho in kidney distal tubule disrupts mineral metabolism. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23: 1641-51
- [6] Chen G, Liu Y, Goetz R, et al.  $\alpha$ -Klotho is a non-enzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signalling. *Nature*, 2018, 553: 461-6
- [7] Hum JM, O'Bryan LM, Tatiparthi AK, et al. Chronic hyperphosphatemia and vascular calcification are reduced by stable delivery of soluble Klotho. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28: 1162-74
- [8] Ohnishi M, Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *FASEB J*, 2010, 24: 3562-71
- [9] Zhou L, Li Y, Zhou D, et al. Loss of Klotho contributes to kidney injury by derepression of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24: 771-85
- [10] Sanchez-Nino MD, Sanz AB, Ortiz A. Klotho to treat kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24: 687-9
- [11] Hu MC, Shi M, Gillings N, et al. Recombinant alpha-Klotho may be prophylactic and therapeutic for acute to chronic kidney disease progression and uremic cardiomyopathy. *Kidney Int*, 2017, 91: 1104-14
- [12] Williams PT. Reduced total and cause-specific mortality from walking and running in diabetes. *Med Sci Sports Exerc*, 2014, 46: 933-9
- [13] Lim K, Lu TS, Molostvov G, et al. Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation*, 2012, 125: 2243-55
- [14] Rizzo B, Maltese G, Paraskevi MP, et al. Induction of antioxidant genes by sulforaphane and klotho in human aortic smooth muscle cells. *Free Radic Biol Med*, 2014, 75 Suppl 1: S14-5
- [15] Maltese G, Psefteli PM, Rizzo B, et al. The anti-ageing hormone klotho induces Nrf2-mediated antioxidant defences in human aortic smooth muscle cells. *J Cell Mol Med*, 2017, 21: 621-7
- [16] Lim SW, Jin L, Luo K, et al. Klotho enhances FoxO3-mediated manganese superoxide dismutase expression by negatively regulating PI3K/AKT pathway during tacrolimus-induced oxidative stress. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2972
- [17] Wang Y, Kuro-o M, Sun Z. Klotho gene delivery suppresses Nox2 expression and attenuates oxidative stress in rat aortic smooth muscle cells via the cAMP-PKA pathway. *Aging Cell*, 2012, 11: 410-7
- [18] Gao D, Zuo Z, Tian J, et al. Activation of SIRT1 attenuates Klotho deficiency-induced arterial stiffness and hypertension by enhancing AMP-activated protein kinase activity. *Hypertension*, 2016, 68: 1191-9
- [19] Lin Y, Chen J, Sun Z. Antiaging gene Klotho deficiency promoted high-fat diet-induced arterial stiffening via inactivation of AMP-activated protein kinase. *Hypertension*, 2016, 67: 564-73
- [20] Xie J, Cha SK, An SW, et al. Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nat Commun*, 2012, 3: 1238
- [21] Hui H, Zhai Y, Ao L, et al. Klotho suppresses the inflammatory responses and ameliorates cardiac dysfunction in aging endotoxemic mice. *Oncotarget*, 2017, 8: 15663-76
- [22] Komaba H, Kaludjerovic J, Hu DZ, et al. Klotho expression in osteocytes regulates bone metabolism and controls bone formation. *Kidney Int*, 2017, 92: 599-611
- [23] Madssen E, Videm V, Moholdt T, et al. Predictors of beneficial coronary plaque changes after aerobic exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 2015, 47: 2251-6
- [24] Avin KG, Coen PM, Huang W, et al. Skeletal muscle as a regulator of the longevity protein, Klotho. *Front Physiol*, 2014, 5: 189
- [25] Matsubara T, Miyaki A, Akazawa N, et al. Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306: H348-55
- [26] Santos-Dias A, MacKenzie B, Oliveira-Junior MC, et al. Longevity protein klotho is induced by a single bout of exercise. *Br J Sports Med*, 2017, 51: 549-50
- [27] Mostafidi E, Moeen A, Nasri H, et al. Serum Klotho levels in trained athletes. *Nephrourol Mon*, 2016, 8: e30245
- [28] Ling C, Ronn T. Epigenetic adaptation to regular exercise in humans. *Drug Discov Today*, 2014, 19: 1015-8
- [29] Azuma M, Koyama D, Kikuchi J, et al. Promoter methylation confers kidney-specific expression of the Klotho gene. *FASEB J*, 2012, 26: 4264-74
- [30] Young GH, Wu VC. KLOTHO methylation is linked to uremic toxins and chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2012, 81: 611-2
- [31] Jung D, Xu Y, Sun Z. Induction of anti-aging gene klotho with a small chemical compound that demethylates CpG islands. *Oncotarget*, 2017, 8: 46745-55
- [32] Zhang Q, Liu L, Lin W, et al. Rhein reverses Klotho repression via promoter demethylation and protects against kidney and bone injuries in mice with chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2017, 91: 144-56
- [33] Thomas AW, Davies NA, Moir H, et al. Exercise-associated generation of PPAR $\gamma$  ligands activates PPAR $\gamma$  signaling events and upregulates genes related to lipid metabolism. *J Appl Physiol* (1985), 2012, 112: 806-15
- [34] Zhang H, Li Y, Fan Y, et al. Klotho is a target gene of PPAR- $\gamma$ . *Kidney Int*, 2008, 74: 732-9
- [35] Lin W, Zhang Q, Liu L, et al. Klotho restoration via acetylation of peroxisome proliferation-activated receptor  $\gamma$  reduces the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2017, 92: 669-79
- [36] Lau WL, Leaf EM, Hu MC, et al. Vitamin D receptor agonists increase klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet. *Kidney Int*, 2012, 82: 1261-70
- [37] Makanae Y, Ogasawara R, Sato K, et al. Acute bout of resistance exercise increases vitamin D receptor protein expression in rat skeletal muscle. *Exp Physiol*, 2015, 100: 1168-76