

老年高血压病与血浆 Klotho、FGF23 蛋白水平的相关性研究*

裴文楠,李宝善,蒋宜[△],唐渝平,李婷,周敏,柴李殷

(重庆市急救医疗中心老年科 400014)

[摘要] **目的** 研究血浆 Klotho 蛋白、成纤维生长因子 23(FGF23)与老年高血压病的相关性。**方法** 选择年龄大于 60 岁高血压病患者 180 例作为研究组,按血压水平不同分为高血压 1 级组(60 例),高血压 2 级组(60 例),高血压 3 级组(60 例),另选年龄、男女比例大致一致、无高血压病老年人 60 例作为对照组,应用 ELISA 检测血浆 Klotho、FGF23 蛋白水平,应用生化自动分析仪检测血脂水平,并与对照组进行比较,分析其相关性。**结果** 高血压 1、2、3 级组血浆 Klotho 低于对照组,FGF23 蛋白水平高于对照组,BMI 高于对照组($P<0.05$)。随血压水平升高,血浆 Klotho 蛋白水平逐渐降低,而 FGF23 蛋白水平逐渐升高。Klotho 与 FGF23 之间有负相关性($r=-0.282, P=0.001$),Klotho、FGF23 与 BMI 无明显相关性($r=-0.063, -0.098, P>0.05$)。**结论** 血浆 Klotho 蛋白、FGF23 蛋白水平与血压水平有明显相关性,可能共同参与高血压的发生、发展。

[关键词] Klotho 蛋白;老年人;高血压;相关性**[中图分类号]** R544.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)12-1647-03**Study on correlation between plasma Klotho, FGF23 protein level and senile hypertension**Pei Wenan, Li Baoshan, Jiang Yi[△], Tang Yuping, Li Ting, Zhou Min, Chai Liyin

(Department of Geriatrics, Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China)

[Abstract] **Objective** To explore the correlation between plasma Klotho and FGF23 levels with senile hypertension. **Methods** Totally 180 cases of hypertension aged more than 60 years old were selected as the research group and divided into the grade 1 hypertension group(60 cases), grade 2 hypertension group(60 cases) and grade 3 hypertension group(60 cases). The age and proportion of male to female were basically consistent. 60 elderly people without hypertension were selected as the control group. The level of plasma Klotho and FGF23 protein were tested by ELISA. The lipid level was detected by the automatic biochemical analyzer. The detection results were compared with those in the control group for analyzing their correlation. **Results** Plasma Klotho protein level in each hypertension group was lower than that in the control group, while plasma FGF23 protein level and BMI were significantly higher than those in the control group($P<0.05$). With the blood pressure level increase, plasma Klotho protein level was gradually decreased, while FGF23 protein level was gradually increased. The negative correlation was found between plasma Klotho protein and FGF23 protein ($r=-0.282, P=0.001$). Plasma Klotho protein and FGF23 protein had no obvious correlation with BMI ($r=-0.063, -0.098, P>0.05$). **Conclusion** Plasma Klotho protein and FGF23 protein levels have obvious correlation with the blood pressure level, which may jointly participate in the occurrence and development of hypertension.

[Key words] Klotho protein; aged; hypertension; correlation

Kuro 等^[1]从衰老表现的模型小鼠中成功克隆 Klotho 基因,并发现该基因表达缺陷的小鼠会出现类似人衰老的一系列表型变化,如动脉硬化、糖代谢异常、骨质疏松、肺气肿等。近年来国内外学者^[2-5]研究发现,Klotho 基因及 Klotho 蛋白与高血压进程、老年高血压、高血压脑损伤关系密切。研究发现成纤维生长因子 23(fibroblast growth factor 23, FGF23)基因缺陷小鼠与 Klotho 基因表达缺陷小鼠显现出类似的过早衰老表型,推测 FGF23 与 Klotho 缺陷小鼠所出现的过早衰老表型可能是由于 Klotho-FGF23 这一共同的信号通路受到破坏的结果^[6]。后续研究证实 Klotho 与 FGF23 相互作用及其在下游的信号转导中发挥了极其重要的作用^[7]。为此,本研究应用 ELISA 法定量检测老年高血压病患者及对照组血浆 Klotho、FGF23 蛋白水平,揭示 Klotho、FGF23 蛋白与老年高血压病的相关性,为高血压病的防治开辟新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选自 2014 年 5 月至 2015 年 5 月本科住院老年高血压病患者 180 例作为研究组,入组时均经过询问病史、体格检查、X 线片检查、心电图、超声心动图检查、相关实验室检查等。采用水银柱血压计测量患者右侧上臂血压。对照组 60 例老年人,收缩压(SBP) <140 mm Hg 和舒张压(DBP) $<$

90 mm Hg;高血压 1 级组 60 例,SBP 140~159 mm Hg 和(或)DBP 90~99 mm Hg;高血压 2 级组 60 例,SBP 160~179 mmHg 和(或)DBP 100~109 mm Hg;高血压 3 级组 60 例,SBP ≥ 180 mm Hg 和(或)DBP ≥ 110 mm Hg。入选标准:(1)年龄大于或等于 60 岁;(2)符合《中国高血压防治指南 2010》^[8]定义的高血压标准;(3)血、尿、粪常规、肝、肾功能、电解质检测均正常;(4)既往有高血压,但未服药治疗或未规律服药治疗,现血压仍大于或等于 140/90 mm Hg。排除标准:(1)患者既往有高血压病史,正在使用降压药物治疗,目前血压小于 140/90 mm Hg;(2)患有急慢性肝、肾疾病、肿瘤、冠心病、脑血管病、自身免疫性疾病、其他感染性疾病;(3)血、尿、粪常规、肝、肾功能不在正常范围;(4)继发性高血压患者。

1.2 试剂与仪器 人 Klotho、FGF23 蛋白 ELISA 检测试剂盒(编号: DY5334-05、DY2604-05、DY008)购自美国 R&D 公司。Bio-Rad 680 型酶标仪由美国 Bio-Rad 公司生产;L400 台式低速自动平衡离心机由湖南湘仪离心机厂生产。

1.3 方法 患者入院次日清晨空腹抽取静脉血,肝素抗凝,3 000 r/min 离心 5 min 分离血浆,部分血-20℃冰箱保存备用。取血浆样品 100 μ L 按 ELISA 试剂盒说明书操作测定血浆 Klotho 蛋白水平。余血促凝离心,分离血清使用日立 7060

表 1 各组一般临床情况对比($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组($n=60$)	高血压 1 级组($n=60$)	高血压 2 级组($n=60$)	高血压 3 级组($n=60$)	P
年龄(岁)	69.67 \pm 12.63	69.02 \pm 14.65	67.98 \pm 11.37	69.57 \pm 10.00	0.876
男/女(n/n)	27/33	31/29	28/32	29/31	0.740
BMI(kg/m^2)	21.99 \pm 3.11	23.33 \pm 3.26	23.37 \pm 3.33	24.03 \pm 3.39	0.021
TC(mmol/L)	4.98 \pm 1.27	4.72 \pm 1.18	4.91 \pm 0.80	4.77 \pm 1.10	0.558
TG(mmol/L)	1.55 \pm 1.40	1.76 \pm 1.11	1.42 \pm 0.87	1.84 \pm 1.22	0.306
LDL-C(mmol/L)	2.56 \pm 1.02	2.41 \pm 0.91	2.46 \pm 0.71	2.44 \pm 0.91	0.551
HDL-C(mmol/L)	1.33 \pm 0.43	1.25 \pm 0.41	1.29 \pm 0.31	1.23 \pm 0.38	0.829

表 2 4 组间 BMI、Klotho、FGF23 蛋白水平对比

项目	对照组($n=60$)	高血压 1 级组($n=60$)	高血压 2 级组($n=60$)	高血压 3 级组($n=60$)
BMI(kg/m^2)	21.99 \pm 3.11 ^{abc}	23.33 \pm 3.26	23.37 \pm 3.33	24.03 \pm 3.39
Klotho 蛋白(pg/mL)	813.72 \pm 52.82 ^{bc}	764.07 \pm 58.49 ^c	657.39 \pm 18.22	559.60 \pm 19.13 ^a
全 FGF23 蛋白(pg/mL)	1 674.94 \pm 44.36 ^{bc}	1 798.25 \pm 57.62 ^c	1 873.56 \pm 63.26	1 911.71 \pm 59.66 ^a

^a: $P<0.05$,与高血压 1 级组比较;^b: $P<0.05$,与高血压 2 级组比较;^c: $P<0.05$,与高血压 3 级组比较。

自动生化分析仪测定总胆固醇(total cholesterol,TC)、总三酰甘油(total triglyceride,TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL-C)。收集身高、体质量、BMI 等资料。

1.4 统计学处理 采用 PASW Statistics18.0 软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组之间计量资料的比较采用单因素方差检验,组间两两比较采用 LSD- t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验;两变量之间关系分析采用 Pearson 线性相关分析;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般情况比较 高血压 1、2、3 级组年龄、性别比例、TC、TG、LDL-C、HDL-C 与对照组比较差异无统计学意义,而 BMI 明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 各组 BMI、血浆 Klotho、FGF23 蛋白水平比较 高血压 1 级组、高血压 2 级组、高血压 3 级组 BMI 均明显高于对照组($P<0.05$),差异有统计学意义($P<0.05$),而 BMI 在高血压 1、2、3 组间差异无统计学意义($P>0.05$)。各组 Klotho 蛋白、FGF23 蛋白水平比较,随血压水平升高,血浆 Klotho 蛋白水平逐渐降低,而 FGF23 蛋白水平逐渐升高,Klotho 蛋白水平在高血压 2 级组、高血压 3 级组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),高血压 1 级组与高血压 3 级组比较差异有统计学意义($P<0.05$),高血压 1 级组与对照组比较、高血压 1 级组与高血压 2 级组比较、高血压 2 级组与高血压 3 级组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。FGF23 蛋白水平在高血压 3 级组、高血压 2 级组分别与对照组、高血压 1 级组比较差异有统计学意义($P<0.05$),其余组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 血浆 Klotho 蛋白、FGF23 蛋白水平之间的相关性 采用 Pearson 分析法分析得,Klotho 蛋白与 FGF23 蛋白之间呈负相关性($r=-0.282$, $P=0.001$),Klotho、FGF23 与 BMI 无明显相关性($r=-0.063$, -0.098 ,均 $P>0.05$)。

3 讨论

高血压病作为最常见的衰老相关性心血管疾病之一,已成为影响老年人健康和长寿的重要因素。我国高血压患病率近年来呈增长态势,每 5 个成人中就有 1 人患高血压,估计目前全国高血压患者至少 2 亿^[8]。随着其病程发展,常可导致心、脑、肾等重要靶器官损伤,随着病程的持续性进展,包括心力衰竭、心源性猝死、心肌梗死等心血管事件的发生率明显增高,严重危及患者生命。为此,探究影响或调控高血压病发生、发展的分子生物学机制及其可能的信号调节通路,对人们寻找有效防治高血压病的方法有着十分重要的研究意义。

Kuro 等^[1]在动物实验研究中发现,Klotho 基因表达缺陷的小鼠会出现类似人衰老的一系列表型变化,如动脉硬化等。Masashi 等^[9]也研究发现血清 Klotho 蛋白水平降低与慢性肾脏疾病患者动脉硬化有关。而 Klotho 基因的正常表达可抑制并逆转动脉硬化等病理生理过程,如降低血压、防止动脉内膜增厚及血管纤维化等。本课题组参与的前期研究^[10]证实 Klotho 基因单核苷酸多态性与高血压病有明确相关性,应用 rAAV.mKL(含小鼠全长 Klotho cDNA 的腺相关病毒载体)在自发性高血压大鼠体内动物实验发现 Klotho 蛋白可以阻止高血压进程、降低体质量指数、抑制心肌肥大和心肌纤维化,改善心肌微结构损伤^[5]。Aizawa 等^[11]、苏显明等^[12]研究发现高血压病患者血清 Klotho 蛋白水平下降,并且血清 Klotho 蛋白的水平随高血压的发展而呈逐渐下降趋势。这就提示 Klotho 基因及其蛋白表达与高血压病发生发展及心脏靶器官损伤有关。

FGF23 是多肽激素成纤维细胞生长因子家族的成员,是体内血磷和 1,25-二羟活性维生素 D3(1,25-(OH)₂D₃)的调节因子^[13]。Yilmaz 等^[14]研究显示,在血管内皮细胞中,FGF23-FGFR 复合体通过干扰 NO 合成酶的活性引起 NO 合成减少,致使血管舒张功能降低,引起血压升高。Sigala 等^[15]在增厚的动静脉内膜中层发现了 FGFR1 及 FGFR4 的表达,并证明 FGF23 激活 FGFR 后可诱发血管内膜增生及纤维化。Kim 等^[16]研究发现 FGF23 需要与 Klotho 蛋白及 FGF 受体(FGFR)结合形成 FGF23-FGFR-Klotho 复合体发挥生物学效应。本研究中,老年高血压 1、2、3 级组患者血清 FGF23 水平显著高于对照组,且 FGF23 水平随血压分级上升而递增,提示 FGF23 可能参与老年高血压的发病过程,对评估高血压病情有一定意义。

本研究结果可能是老年高血压患者血清 Klotho 蛋白水平降低,FGF23 蛋白升高,引起血管内皮功能障碍及动脉硬化,从而导致血压升高。有研究报道血清 Klotho 蛋白水平随年龄增加而降低,本研究在除去年龄、性别等因素后,Klotho 蛋白与血压水平仍呈负相关,推测内源性 Klotho 蛋白减少、FGF23 蛋白升高可能是高血压发生发展的独立危险因素,但其具体机制还有待进一步研究。

综上所述,血浆 Klotho 蛋白、FGF23 蛋白水平与高血压病及高血压病严重程度有相关性,所以通过检测血浆 Klotho 蛋白、FGF23 蛋白水平来评估高血压病严重程度、判断预后具有临床指导意义。同时高血压患者经治疗后血浆 Klotho 蛋白、FGF23 蛋白水平变化情况如何,还有待后续进一步研究。因此,本研究为进一步研究 Klotho 蛋白的功能及高血压病的防治提供了新的思路和实验依据。

参考文献

- [1] Kuro M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing [J]. *Nature*, 1997, 390: 45-51.
- [2] Wang Y, Sun Z. *Klotho* gene delivery prevents the progression of spontaneous hypertension [J]. *Hypertension*, 2009, 54(4): 810-817.
- [3] 刘晓林, 马厚勋, 田小春, 等. *Klotho* 基因单核苷酸多态性及其组合与老年高血压病的相关性研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(4): 389-393.
- [4] 李湘民, 周巧玲. 高血压脑损害患者血清 *Klotho* 蛋白水平测定及相关危险因素分析 [J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(8): 839-841.
- [5] 李宝善, 马厚勋, 王艳娇, 等. *Klotho* 基因转导延缓自发性高血压大鼠高血压进程及改善其心脏损害的作用研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2012, 29(6): 662-668.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010 [J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(7): 579-616.
- [9] Masashi K, Hitoshi S, Hiroshi M, et al. A decreased level of serum soluble *Klotho* is an independent biomarker as-

sociated with arterial stiffness in patients with chronic kidney disease [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56695.

- [10] 刘晓林, 马厚勋, 田小春, 等. *Klotho* 基因 3 个 SNP 位点与老年高血压及脂代谢的相关性 [J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(23): 3429-3432.
- [11] Aizawa H, Saito Y, Nakamura T, et al. Downregulation of the *Klotho* gene in the kidney under sustained circulatory stress in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 249(3): 865-871.
- [12] 苏显明, 何亚军, 刘景委, 等. *Klotho* 蛋白与老年高血压发病的关系 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2011, 65(5): 653-654.
- [13] Komaba H, Fukagawa M. FGF23-parathyroid interaction: implications in chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(4): 292-298.
- [14] Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M, et al. FGF-23 and vascular dysfunction in patients with stage 3 and 4 chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(7): 679-685.
- [15] Sigala F, Savvari P, Liontos M, et al. Increased expression of bFGF is associated with carotid atherosclerotic plaques instability engaging the NF-kappaB pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(9): 2273-2280.
- [16] Kim JH, Hwang KH, Park KS, et al. Biological Role of Antiaging Protein *Klotho* [J]. *J Lifestyle Med*, 2015, 5(1): 1-6.

(收稿日期: 2015-12-08 修回日期: 2016-01-26)

(上接第 1646 页)

利用微电极记录技术^[6], 分析不同神经核团细胞放电特异性, 从而实现手术靶点的精确定位。本次研究表明: 立体定向功能核团损毁手术治疗 PD 时, 微电极记录引导与常规解剖学定位靶点两种方法对改善 PD 术后症状方面及减少左旋多巴类药物用量方面无明显差异。

3.2 手术疗效 立体定向功能核团损毁手术治疗 PD 的近期疗效已经得到大家的一致认可, 但其远期疗效尚存争议^[9-11], 鉴于目前国情, 核团损毁手术医疗费用较低, 对大部分 PD 患者仍不失为一种选择。本研究术后随访发现, 术后继续口服左旋多巴类或多巴胺类激动剂者症状控制相对比较理想, 而自行减药甚至停药者, 部分患者在术后缓解的基础上再次复发, 恢复术前较大剂量用药后症状才可以得到有效改善。因此, 核团损毁术后患者继续服用左旋多巴类药物是十分必要的, 同时结合损毁术后积极的康复训练治疗, 对减轻患者病情进展和改善术后生活质量有重要的临床意义。同时作者在 Gpi 或 Vim 的核团损毁过程中, 部分采用了微电极记录的定位方法。研究结果显示: 无论采用何种核团损毁手术治疗, 术后 3 个月、6 个月、1 年的 UPDRS 评分较损毁术前差异有统计学意义, 且术后患者口服左旋多巴类及其激动剂的剂量较术前显著减少; 结果同时显示: 微电极引导及常规立体定向核团损毁手术在改善患者 UPDRS 评分上差异无统计学意义。

参考文献

- [1] 张振馨. 帕金森病的诊断 [J]. 中华神经科杂志, 2006, 39(6): 408-409.
- [2] 戴蘅茹, 姚家庆. AC-PC 平面定位研究 [J]. 功能性和立体定向神经外科杂志, 1991, 4(2): 1.
- [3] 沈维高, 王跃华, 刘艳波, 等. 立体定向脑图谱基准点的测

定及其意义 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2013, 30(1): 61-67.

- [4] 赵全军, 田增民, 李士月, 等. 改良 Webster 症状评分量表在帕金森病手术疗效评估中的意义 [J]. 解放军医学杂志, 2002, 27(1): 81-83.
- [5] 陈杰, 刘金龙, 陈曦, 等. 双侧丘脑底核脑深部电刺激治疗中晚期帕金森病的疗效 [J]. 中华医学杂志, 2011, 91(5): 291-295.
- [6] 张世忠, 张旺明, 徐强, 等. 微电极导向核团损毁术和脑深部电刺激术治疗帕金森病的疗效分析 [J]. 中华神经外科杂志, 2006, 22(12): 720-723.
- [7] 曾凡俊, 夏勋, 邢学民, 等. 帕金森病立体定向丘脑腹外侧核射频毁损手术疗效分析 [J]. 西南军医, 2009, 11(3): 391-392.
- [8] 张勇, 林军, 刘窗溪, 等. 立体定向脑深部电刺激术治疗帕金森病 [J]. 立体定向和功能性神经外科杂志, 2012, 25(5): 257-260.
- [9] Hu XW, Jiang XF, Zhou XP, et al. Risk of intracranial hemorrhage in patients with Parkinson's disease receiving deep brain stimulation and ablation [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2010, 16(2): 96-100.
- [10] 赵长地, 苗兴路, 薛健. 立体定向脑内核团损毁及深部电刺激术治疗帕金森病 54 例临床分析 [J]. 立体定向和功能性神经外科杂志, 2013, 26(6): 1-3.
- [11] 张佩斯. 立体定向丘脑核团损毁治疗帕金森病临床分析 [J]. 中国民康医学, 2014, 26(19): 86-98.

(收稿日期: 2015-12-18 修回日期: 2016-01-23)