

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.13.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200529.1030.002.html\(2020-05-29\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200529.1030.002.html(2020-05-29))

Klotho 过表达对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、迁移及 PI3K/AKT 通路的影响

蒋茂芬^{1,2}, 李君强¹, 刘春姣¹, 王 敏¹

(1. 浙江省宁波市北仑区人民医院病理科 315800; 2. 温州医科大学, 浙江温州 325035)

[摘要] **目的** 探讨过表达 Klotho 基因对胃癌细胞 SGC-7901 细胞增殖、迁移及磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)通路的影响。**方法** 体外培养胃癌细胞 SGC-7901、正常胃黏膜细胞 CES-1, 采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法和 Western blot 检测细胞 Klotho mRNA 和蛋白相对表达水平; 将 SGC-7901 细胞分为 Klotho 组、阴性对照组(NC 组)、空白对照组(BC 组), 构建 Klotho 过表达载体, 转染细胞后检测细胞 Klotho mRNA 和蛋白相对表达水平; 利用 CKK-8 法检测细胞增殖情况, 利用 Transwell 实验检测细胞迁移、侵袭情况, 利用 Western blot 检测 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达情况。**结果** 胃癌细胞 SGC-7901 中 Klotho mRNA 及蛋白相对表达水平较正常胃黏膜细胞 CES-1 明显降低($P<0.05$)。转染后, Klotho 组、NC 组检测到绿色荧光细胞比例达 90%; 以上 Klotho 组细胞中 Klotho mRNA 及蛋白相对表达水平较 BC 组与 NC 组明显升高($P<0.05$); Klotho 组细胞增殖率较 BC 组与 NC 组明显降低($P<0.05$); Klotho 组迁移、侵袭细胞数较 BC 组与 NC 组明显降低($P<0.05$); Klotho 组细胞 PI3K、AKT 蛋白相对表达水平与 BC 组、NC 组比较无明显差异($P>0.05$); Klotho 组细胞磷酸化 AKT(p-AKT)、磷酸化 PI3K(p-PI3K)、CD44、基质金属蛋白酶 9(MMP9)蛋白相对表达水平较 BC 组、NC 组明显降低($P<0.05$)。**结论** 过表达 Klotho 可抑制胃癌细胞 SGC-7901 细胞增殖、迁移、侵袭, 其机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关。

[关键词] Klotho; 胃肿瘤; 细胞增殖; 细胞迁移; 磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B; 信号通路

[中图分类号] R735.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)13-2065-06

Effects of overexpression of Klotho on proliferation, migration and PI3K/AKT pathway in gastric cancer SGC-7901 cells

JIANG Maofen^{1,2}, LI Junqiang¹, LIU Chunjiao¹, WANG Min¹

(1. Department of Pathology, People's Hospital of Beilun District, Ningbo, Zhejiang 315800, China; 2. Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of overexpression of Klotho gene on proliferation, migration and phosphoinositide-3 kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) pathway in gastric cancer SGC-7901 cells. **Methods** The gastric cancer cell line SGC-7901 and the normal gastric mucosal cell line CES-1 were cultured in vitro, and the relative expression levels of Klotho mRNA and protein were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blot, respectively. The SGC-7901 cells were divided into the Klotho group, the negative control group (NC group) and the blank control group (BC group). The Klotho overexpression vector was constructed, and the relative expression levels of Klotho mRNA and protein were detected after transfection. The CKK-8 method was used to detect cell proliferation, the Transwell assay was used to detect cell migration, and the expression levels of PI3K/AKT pathway-related proteins were detected by Western blot. **Results** The relative expression levels of Klotho mRNA and protein in gastric cancer cell SGC-7901 were significantly lower than those in normal gastric mucosal cell CES-1 ($P<0.05$). After transfection, the proportion of green fluorescent cells in the Klotho group and the NC group was above 90%. The relative expression levels of Klotho mRNA and protein in the Klotho group were significantly higher than those in the BC group and the NC group ($P<0.05$); the cell proliferation rate of the Klotho group was significantly lower than that of the BC group and the NC group ($P<0.05$); the number of migrating and invasive

cells in the Klotho group was significantly lower than that in the BC group and the NC group ($P < 0.05$); the relative expression levels of PI3K and AKT proteins in the Klotho group were not significantly different from those in the BC group and the NC group ($P > 0.05$), while the relative expression levels of phosphorylated AKT (p-AKT), phosphorylated PI3K (p-PI3K), CD44 and matrix metalloproteinase 9 (MMP9) proteins in the Klotho group were significantly lower than those in the BC group and the NC group ($P < 0.05$). **Conclusion** Overexpression of Klotho can inhibit the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cell line SGC-7901, and the mechanism may be related to the inhibition of PI3K/AKT signaling pathway.

[Key words] Klotho; stomach neoplasms; cell proliferation; cell migration; inositol phosphate-3 kinase/protein kinase B; signaling pathway

胃癌是常见的消化道肿瘤,胃癌细胞的淋巴结及腹腔转移是导致患者死亡的主要原因之一^[1]。临床研究发现,胃癌的发生、发展与表观遗传学机制的改变、基因突变等遗传学机制有关^[2]。探讨胃癌发生机制对寻找胃癌肿瘤标志物、筛选易感人群具有重要意义。Klotho 是衰老相关基因^[3],近年来研究发现其作为抑癌基因在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用,在肺癌^[4]、胃癌^[5]等肿瘤组织中低表达。而过表达宫颈癌细胞内 Klotho 基因可抑制细胞生长^[6]。此外,Klotho 蛋白可抑制黑色素瘤细胞迁移^[7]。另有研究发现,Klotho 基因可促进细胞凋亡,抑制肺癌细胞增殖^[3]。早期胃癌组织及胃癌细胞系中 Klotho 基因低表达^[8]。已有研究表明,Klotho 基因在乳腺癌^[9]、胰腺癌^[4]中发挥抑癌基因作用,但有关其在胃癌肿瘤组织中表达水平及具体分子机制的研究相对较少。本研究对胃癌细胞 SGC-7901 中 Klotho 基因表达情况,以及其对细胞增殖、迁移的影响进行研究,并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌细胞株 SGC-7901、正常胃黏膜细胞 CES-1 购自中科院上海细胞生物研究所细胞库。RPMI-1640 培养基、胎牛血清、质粒 pZs-Green1-C1 购自美国 Gibco 公司,逆转录试剂盒及 PCR Mix 试剂盒购自加拿大 Fermentas 公司,Klotho 一抗购自美国 Santa 公司。紫外-可见自动扫描分光光度计购自上海谱元仪器有限公司;PCR 仪购自美国 ABI 公司;流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

采用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养胃癌细胞 SGC-7901 及正常胃黏膜细胞 CES-1 (5% CO₂, 37 °C),每 2~3 天用 0.25% 胰酶消化、传代培养。以三磷酸-甘油醛脱氢酶(GAPDH)基因为内参,采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测细胞 Klotho mRNA 相对表达水平;以 GAPDH 蛋白为内参,采用 Western blot 检测 Klotho 蛋白相对表达

水平。

1.2.2 构建 Klotho 载体

根据 GenBank 查找到的 Klotho 基因序列设计引物,将克隆的 Klotho 基因插入表达载体 pZs-Green1-C1 质粒中,形成重组表达载体 pZs-Green1-C1-Klotho,重提重组质粒,限制性内切酶进行酶切后委托上海生物工程有限公司进行测序,确认重组成功。

1.2.3 细胞转染

将培养至对数期的细胞接种于 6 孔细胞板上 (5.0×10^4 /孔),细胞融合至 70% 时,按照 Lipofectamine™3000 法转染,操作严格按照试剂盒说明书进行。实验分组:(1)Klotho 组,SGC-7901 细胞转染 pZs-Green1-C1-Klotho 载体;(2)阴性对照组(negative control group,NC 组),SGC-7901 细胞转染空白质粒 pZs-Green1-C1;(3)空白对照组(blank control group,BC 组),未转染载体的 SGC-7901 细胞。培养箱培养各组细胞 48 h,置于荧光显微镜下观察转染效率($\times 200$)。筛选出稳定表达 Klotho 的细胞,采用 qRT-PCR 法检测细胞 Klotho mRNA 相对表达水平,以 GAPDH 蛋白为内参照,提取总蛋白,Western blot 检测 Klotho 蛋白相对表达水平。

1.2.4 CKK-8 法检测细胞增殖情况

选取 1.2.3 中各组细胞,胰蛋白酶消化,取对数生长的转染细胞制成细胞悬液,接种至 96 孔板 (5.0×10^4 /孔),分别于培养 0、12、24、36、48、60、72 h 后,按照说明书操作,加入 CKK-8 试剂,培养 1 h,在 450 nm 处测定细胞吸光度(A₄₅₀)值。

1.2.5 Transwell 实验检测细胞迁移与侵袭

选取 1.2.3 中各组细胞,接种于 Transwell 小室上层(3×10^3 /孔),常规培养 24 h,弃去孔中培养液,无钙磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 2 遍,甲醇固定 30 min,风干后加入 500 μ L 0.1% 结晶紫染色 20 min,去除上层未迁移细胞,PBS 清洗 3 次,显微镜下随机拍照并计数发生迁移的细胞数量。在 Transwell 小室上层加入 50 μ L 2.0 mg/mL 基质胶 Matrigel,凝固后接种 1.2.3 中各组细胞,之后同细胞迁移实验操作。

1.2.6 Western blot 检测相关蛋白表达情况

收集对数生长期的各组细胞,提取总蛋白,行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜,利用 Western blot 检测细胞磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3K)、蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)、磷酸化 PI3K(p-PI3K)、磷酸化 AKT(p-AKT)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase,MMP9)、CD44 及内参蛋白 β -actin、GAPDH 表达水平。

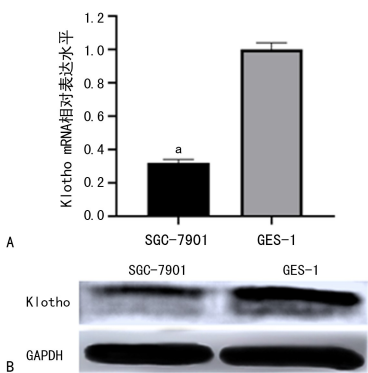
1.3 统计学处理

采用 SPSS20.00 进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞中 Klotho mRNA 及蛋白表达情况

胃癌细胞 SGC-7901 中 Klotho mRNA 及蛋白相对表达水平较正常胃黏膜细胞 CES-1 降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。

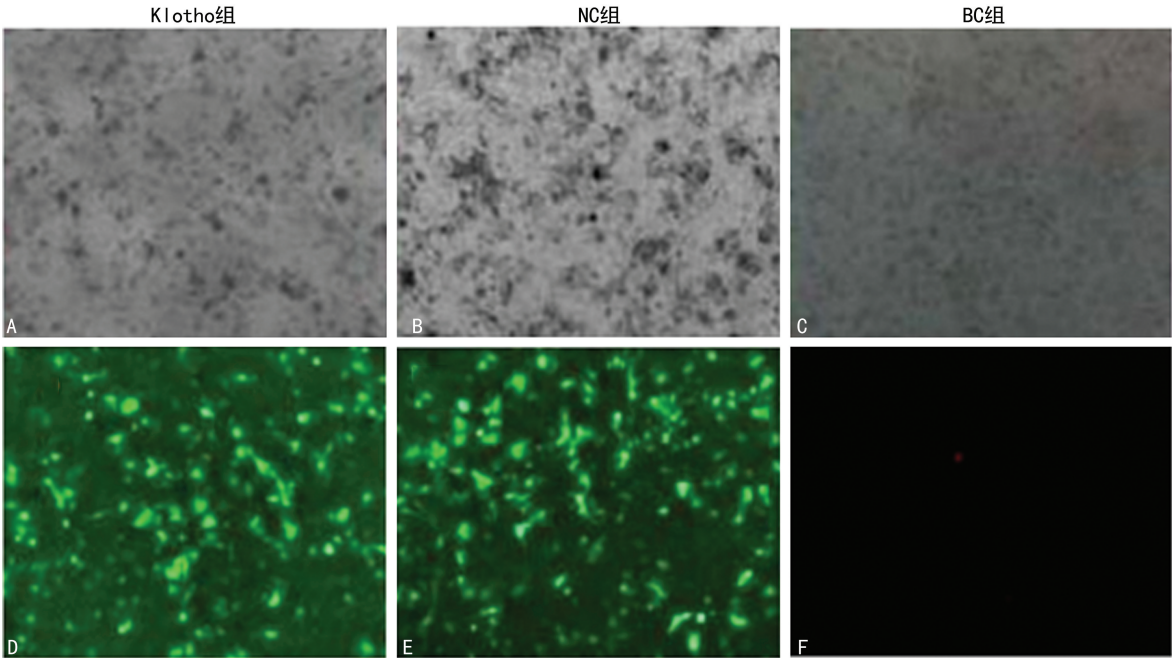


A:细胞中 Klotho mRNA 相对表达水平柱状图;B:细胞中 Klotho 蛋白表达电泳图;^a: $P<0.05$,与 CES-1 比较。

图1 细胞中 Klotho mRNA 及蛋白相对表达水平

2.2 稳定转染细胞株鉴定

检测结果显示,转染后 Klotho 组、NC 组细胞检测到绿色荧光细胞比例达 90%以上,以上明显高于 BC 组($P<0.05$),且 Klotho 组明显高于 NC 组($P<0.05$),见图 2、表 1。



A、B、C:光镜下检测;D、E、F:荧光显微镜下检测。

图2 细胞转染情况($\times 200$)

表 1 转染后绿色荧光细胞比例及细胞中 Klotho mRNA 相对表达水平($\bar{x}\pm s$)		
组别	绿色荧光细胞比例(%)	Klotho/GAPDH
BC 组	0	0.24 $\pm$ 0.03
NC 组	93.25 $\pm$ 3.07 ^a	0.22 $\pm$ 0.01
Klotho 组	94.17 $\pm$ 2.29 ^{ab}	1.10 $\pm$ 0.20 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 BC 组比较;^b: $P<0.05$,与 NC 组比较。

2.3 转染后 SGC-7901 细胞中 Klotho mRNA 及蛋白表达情况

转染后的 Klotho 组细胞中 Klotho mRNA 及蛋白表达水平较 BC 组与 NC 组明显升高($P<0.05$),见图 3、表 1。

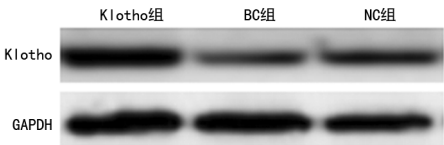


图3 转染后细胞中 Klotho 蛋白表达电泳图

2.4 转染后 SGC-7901 细胞增殖情况

转染后的 Klotho 组细胞增殖率较 BC 组与 NC 组明显降低($P<0.05$),见图 4。

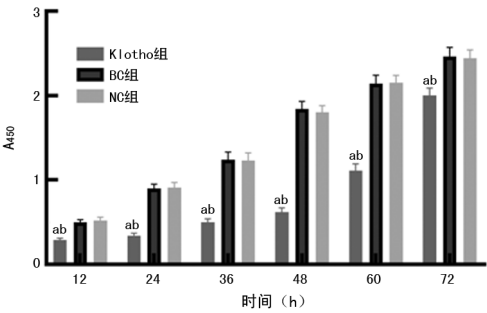
2.5 转染后 SGC-7901 细胞迁移及侵袭情况

转染后的 Klotho 组迁移、侵袭细胞数较 BC 组与 NC 组明显降低($P<0.05$),见图 5。

2.6 转染后 AKT、PI3K、CD44 及 MMP9 蛋白表达情况

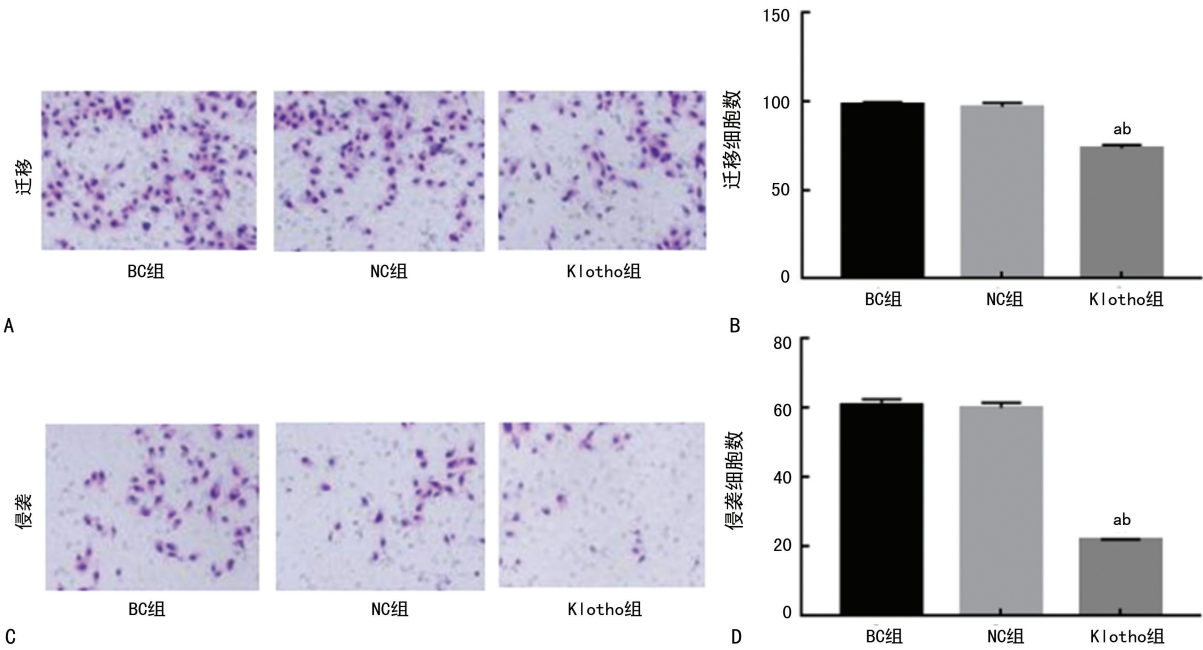
转染后 Klotho 组与 BC 组、NC 组细胞 AKT、PI3K 蛋白相对表达水平比较无明显差异($P>0.05$); Klotho 组细胞 p-AKT、p-PI3K、CD44、MMP9 蛋白相对表达水平较 BC 组、NC 组明显降低($P<0.05$),见

图 6。



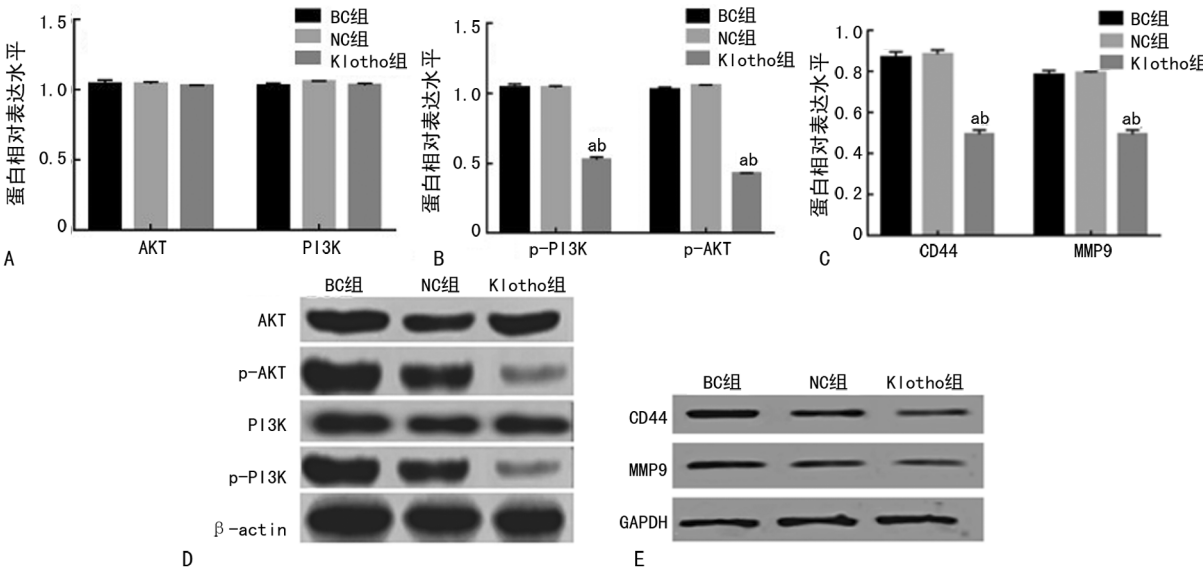
^a: $P<0.05$, 与 BC 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 NC 组比较。

图 4 转染后 SGC-7901 细胞增殖情况柱状图



A,C:SGC-7901 细胞迁移、侵袭图($\times 200$);B,D:SGC-7901 细胞迁移、侵袭细胞数柱状图;^a: $P<0.05$, 与 BC 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 NC 组比较。

图 5 SGC-7901 细胞迁移及侵袭情况



A,B,C:蛋白相对表达水平柱状图;D,E:蛋白表达 Western blot 图;^a: $P<0.05$, 与 BC 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 NC 组比较。

图 6 转染后 AKT、PI3K、CD44 及 MMP9 蛋白表达情况

3 讨 论

近年来,随着检测技术的发展,胃癌的早期发现与治疗已取得较大突破,但其病死率仍居于恶性肿瘤第 2 位,严重危害人们的生命安全^[10]。胃癌的发生、发展与癌基因及抑癌基因的异常活动有关。研究表明,Klotho 基因可作为抑癌基因在肿瘤细胞中发挥重要作用。作者前期研究发现,胃癌根治样品石蜡组织中,癌组织较癌旁组织 Klotho mRNA 相对表达水平及 Klotho 蛋白表达水平低。本研究通过分析过表达 Klotho 基因对胃癌细胞功能的影响,以期进一步探讨胃癌的发生、发展机制。

Klotho 是衰老相关基因,该基因过表达小鼠的寿命较正常小鼠显著延长^[11]。Klotho 可编码一个相对分子质量为 13×10^3 的单次跨膜蛋白,主要表达于远曲肾小管。研究发现,Klotho 不仅与衰老相关疾病发生有关,而且在多种癌组织及癌细胞系中表达水平较正常组织或细胞系明显降低,其表达水平降低可能与肿瘤相关疾病的不良预后有关^[12]。另有研究报道,Klotho 基因在直肠癌^[13]、乳腺癌^[9]等肿瘤组织中低表达,Klotho 基因缺失表达是乳腺癌发生的早期事件,提示其与肿瘤发生有关。免疫组织化学分析显示,肾癌肿瘤组织中 Klotho 蛋白表达水平与肿瘤大小、分期呈负相关。Klotho 蛋白高表达的肾细胞癌患者生存率较低表达患者明显升高。细胞功能分析显示,Klotho 蛋白水平变化与癌细胞转移及增殖有关^[14]。本研究结果显示,胃癌细胞 SGC-7901 中 Klotho mRNA 及蛋白相对表达水平较正常胃黏膜细胞 CES-1 明显降低,与王晨宇等^[5]研究结果相符,提示 Klotho 可能在胃癌中作为抑癌基因发挥作用。构建 Klotho 基因重组表达质粒对 SGC-7901 细胞转染后,Klotho 组、NC 组检测到绿色荧光细胞比例可达 90% 以上,进一步检测发现 Klotho 组细胞中 Klotho mRNA 及蛋白表达水平较 BC 组与 NC 组明显升高,提示转染成功。转染后的 Klotho 组细胞增殖率较 BC 组与 NC 组明显降低,提示过表达 Klotho 能明显抑制 SGC-7901 细胞增殖。有研究显示,外源性 Klotho 表达可通过诱导胃癌细胞凋亡,从而抑制其增殖^[15]。已有报道称,外源性增加 Klotho 表达,不仅可抑制细胞增殖,还可诱导凋亡^[16],与本研究结果相符,但 Klotho 调控胃癌细胞增殖的具体机制有待探索。

进一步研究显示,转染后的 Klotho 组迁移、侵袭细胞数较 BC 组与 NC 组明显降低,提示过表达 Klotho 可能抑制 SGC-7901 迁移、侵袭。细胞黏附因子 CD44 作为跨膜糖蛋白,在细胞间、细胞与基质间的粘连中起重要作用,与肿瘤细胞的迁移能力密切相关^[17],CD44 的高表达与胃癌的浸润程度、淋巴结转移有明显相关性,对胃癌的预后具有一定价值。有研

究显示,CD44 在胃癌中的表达水平与淋巴结转移密切相关,胃癌原发病灶 CD44 高表达患者淋巴结转移阳性率明显高于低表达患者^[18],提示 CD44 可能作为胃癌转移的生物学指标。MMP9 主要功能为降解细胞外基质,在肿瘤组织中表达水平明显高于良性组织,与胃癌细胞的侵袭有关^[19]。本研究结果显示,转染后 Klotho 组细胞 CD44、MMP9 蛋白相对表达水平较 BC 组、NC 组明显降低,进一步表明过表达 Klotho 可能抑制 SGC-7901 迁移、侵袭。

PI3K/AKT 信号通路可调节人类肿瘤细胞的增殖和凋亡,且与肿瘤侵袭及血管形成有关,该通路激活可通过一系列磷酸化作用实现。研究报道,PI3K/AKT 通路与肿瘤的发生、发展,以及肿瘤细胞的迁移、侵袭有关。多种体外实验发现,肿瘤细胞系中可检测到 PI3K/AKT 通路抑制基因的缺失或变异。在胃癌中,Klotho 可通过下调 AKT 蛋白的磷酸化水平影响肿瘤细胞的凋亡^[20]。过表达 Klotho 可通过抑制 PI3K/AKT 通路从而阻止癌细胞表面的 MMP9 蛋白表达,降低癌细胞的侵袭能力^[21-22]。此外,有研究发现,PI3K 参与整合素介导的侵袭过程,AKT 过表达可上调整合素 $\beta 1$ 水平,以增强肿瘤细胞侵袭和转移,抑制 PI3K/AKT 信号通路活性,可下调 CD44 水平,减少肿瘤细胞侵袭和迁移^[23]。Klotho 蛋白可与细胞膜表面特异性受体结合,从而启动胞内特定信号传导通路,抑制胰岛素(INS)和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)在细胞内传递,进而阻碍下游 AKT 磷酸化进程^[24]。本研究结果显示,转染后 Klotho 组细胞 p-PI3K、p-AKT 蛋白相对表达水平较 BC 组、NC 组明显降低,提示过表达 Klotho 基因可抑制 PI3K/AKT 信号通路。关于过表达 Klotho 基因对胃癌细胞 PI3K/AKT 信号通路的具体机制目前尚不清楚,尚需进一步研究。

综上所述,过表达 Klotho 可能通过抑制 PI3K/AKT 信号通路激活,抑制胃癌 SGC-7901 细胞增殖、迁移,为胃癌的靶向治疗提供新思路。

参考文献

- [1] 杨凡,张晟,忻晓洁,等. 三维超声技术评价胃癌腹腔淋巴结转移的应用价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2016,38(5):385-388.
- [2] 丛霆,刘国晓,张珂城,等. 全外显子测序筛查胃癌高频突变基因的突变型与野生型在临床病理表型上的差异[J]. 中华医学杂志,2018,98(28): 2242-2245.
- [3] 张军,代文静,周敬群,等. 抗衰老 Klotho 蛋白对高糖作用下血管内皮细胞的保护作用[J]. 中国

- 病理生理杂志,2017,33(1):67-72.
- [4] CHEN T,REN H,THAKUR A,et al. Decreased level of Klotho contributes to drug resistance in lung cancer cells;involving in Klotho-mediated cell autophagy[J]. Dna Cell Biol,2016,35(12):751-757.
- [5] 王晨宇,刘超,郑蔚. Klotho 及自噬相关蛋白微管相关蛋白 1 轻链 3 在胃癌中的表达及意义[J]. 中华实验外科杂志,2016,33(2):321-323.
- [6] AVIEL-RONEN S,RUBINEK T,ZADOK O,et al. Klotho expression in cervical cancer; differential expression in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma[J]. J Clin Pathol,2016,69(1):53-57.
- [7] BEHERA R,KAUR A,WEBSTER M R,et al. Inhibition of age-related therapy resistance in melanoma by rosiglitazone-mediated induction of Klotho[J]. Clin Cancer Res,2017,23(12):3181-3190.
- [8] 龙方懿,贾萍,王华飞,等. Klotho 通过抑制自噬逆转乳腺癌紫杉醇耐药的作用机制研究[J]. 局解手术学杂志,2017,26(11):21-24.
- [9] KATOH M. FGFR inhibitors;effects on cancer cells,tumor microenvironment and whole-body homeostasis (review)[J]. Int J Mol Med,2016,38(1):3-15.
- [10] 王倩,袁敏,陈志国,等. RARG 对胃癌细胞活力和迁移能力的影响[J]. 中国病理生理杂志,2018,34(5):18-24.
- [11] 郭煜晖,胡大军,陈静,等. 衰老相关基因 Klotho 的研究进展[J]. 中国老年学杂志,2017,37(3):245-247.
- [12] 张艳芳,李醒亚. Klotho 基因对子宫颈鳞癌细胞恶性生物学行为的影响及相关机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2017,24(5):521-526.
- [13] XUAN N T,VAN HAI N. Changes in expression of klotho affect physiological processes, diseases,and cancer[J]. Iran J Basic Med Sci,2018,21(1):3-8.
- [14] HORI S,MIYAKE M,TATSUMI Y,et al. Gamma-klotho exhibits multiple roles in tumor growth of human bladder cancer[J]. Oncotarget,2018,9(28):19508-19524.
- [15] 李媛,孙锁锋. 山茱萸多糖通过上调 Klotho 表达和抑制 PI3K/AKT 通路对肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡的影响[J]. 现代药物与临床,2019,34(10):2887-2893.
- [16] 杨莎莎,周利. Klotho 通过激活 PI3K/AKT 通路抑制肾小球系膜细胞内质网应激介导的细胞凋亡研究[J]. 四川医学,2019,40(10):1010-1016.
- [17] SENBANJO L T,CHELLAIAH M A. CD44;a multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells[J]. Front Cell Dev Biol,2017,5:18.
- [18] 盛圆,张开光,吴海波,等. 早期胃癌组织 CD44v6 蛋白表达、LVD 变化及其与患者临床病理参数的关系[J]. 山东医药,2018,58(8):63-66.
- [19] CHEN S W,ZHANG Q,XU Z F,et al. HOXC6 promotes gastric cancer cell invasion by upregulating the expression of MMP9[J]. Mol Med Rep,2016,14(4):3261-3268.
- [20] 王均鹏,孟丽霞,潘黎明,等. 抗衰老 Klotho 蛋白对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用及其机制[J]. 中国动脉硬化杂志,2017,25(4):347-354.
- [21] YAO Y,WANG Y,ZHANG Y,et al. Klotho ameliorates oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced oxidative stress via regulating LOX-1 and PI3K/Akt/eNOS pathways [J]. Lipids Health Dis,2017,16(1):77.
- [22] LIANG H,YANG K,XIN M,et al. MiR-130a protects against lipopolysaccharide-induced glomerular cell injury by upregulation of klotho [J]. Pharmazie,2017,72(8):468-474.
- [23] 王清富. 溶血磷脂酸通过调控 PI3K/AKT 信号通路对骨肉瘤细胞黏附和迁移的作用[J]. 肿瘤学杂志,2019,25(4):320-324.
- [24] 郭煜晖,周安方,张长城. 肾脾阳虚对实验大鼠大脑海马组织衰老相关基因 Klotho、Akt、Foxo3a mRNA 及蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2014,29(10):3261-3264.