

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.11.046

Klotho 蛋白在糖尿病肾病中的研究进展 *

武晓碧 汪晓霞[△] 张希尧 王婵媛

(哈尔滨医科大学附属第四医院内分泌科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: Klotho 蛋白是近期发现的和衰老密切相关的蛋白,主要表达于肾小管上皮细胞和脑脉络膜。Klotho 蛋白的高表达可以增加机体对氧化应激的抵抗。许多研究证实,在糖尿病肾病中,肾脏 klotho 的表达降低,并且通过调节磷酸盐代谢、抗氧化应激、抗肾脏纤维化、抗肾小球肥大、抗凋亡、抗炎症等途径保护肾功能。本文就 klotho 蛋白与糖尿病肾病的关系进行综述,探寻其在糖尿病肾病中的分子生物学机制。

关键词: Klotho 蛋白;糖尿病肾病;研究进展

中图分类号: R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)11-2174-04

Progress on the Role of Klotho Protein in Diabetic Nephropathy*

WU Xiao-bi, WANG Xiao-xia[△], ZHANG Xi-yao, WANG Chan-yuan

(Department of Endocrinology, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Klotho is a recently discovered anti-aging protein and is primarily expressed in kidneys distal convoluted tubules and choroid plexus in the brain. Overexpression of Klotho increases resistance to oxidative stress. A previous study suggested a decrease in klotho protein in kidneys of patients and animals with diabetic nephropathy. Through adjustment of phosphate metabolism, inhibition of oxidative stress, anti renal fibrosis, restrain to kidney hypertrophy, inhibit apoptosis and anti-inflammatory to protect renal function. The aim of this article is to discuss the progress of research on the relationship between klotho protein and diabetic nephropathy, exploring the pathogenesis that klotho protein play in diabetic nephropathy.

Key words: Klotho protein; Diabetic nephropathy; Research progress

Chinese Library Classification (CLC): R587.2 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)11-2174-04

前言

糖尿病可以加速老化,在那些易合并并发症的亚组中尤为明显^[1]。合并糖尿病肾病的 2 型糖尿病病人的肾小管上皮细胞显示细胞衰老增加,以染色体端粒长度的缩短和衰老标记物的表达增加为特征^[2]。Klotho 蛋白高表达于脑脉络膜和肾小管上皮细胞,是 Klotho 基因编码的一种单向跨膜蛋白^[3-5]。Klotho 蛋白是一种抗衰老的激素,可以调节抗氧化酶的表达水平^[6-8]。Klotho 缺乏的大鼠呈现与老化相关的表型且更易死亡^[9]。Koh N 等^[10]研究发现,在慢性肾衰竭(CKD)时,患者肾脏 klotho 基因和 klotho 蛋白的表达均显著减少。Klotho 的表达在肾脏缺血再灌注时显著受抑,糖尿病肾病中显著减少;而 klotho 的过表达时,则可以阻止肾小球肾炎引起的细胞衰老、凋亡,保护肾功能^[11-14]。基于这些观察,本文就近年来 klotho 蛋白在糖尿病肾病发病的分子机制方面的研究现状作一综述。

1 Klotho 蛋白

1.1 Klotho 蛋白的分子结构

人和小鼠的 klotho 基因定位于染色体 13q12 区域,大鼠定

位于 12q12 区域。Klotho 蛋白是由体内 klotho 基因编码的单向、单次的横跨膜蛋白,高表达于肾脏远曲小管、脑脉络膜、甲状旁腺^[5],具有一系列生物学功能。Klotho 蛋白的细胞外域包含 2 个接近 550 个氨基酸的内在重复序列,而这 2 个序列分别被膜镶嵌的蛋白酶 ADAM10 和 ADAM17 所剪切,形成两种形式的蛋白:分泌型 klotho 蛋白(KL)和膜型 klotho 蛋白^[15],这两种蛋白分别发挥不同的作用^[16]。Klotho 蛋白全长接近 135kDa,包括 N-末端一个特定的单核苷酸序列,一个 21 个氨基酸的单向跨膜的 C-末端区域和一个短的 11 个氨基酸的细胞质区域(10 个氨基酸)^[17,18]。在人类和动物中,均可以检测到分泌型和膜型 klotho 蛋白的存在^[19],分泌型 klotho 的表达水平在人体中显著高于膜型 klotho 蛋白的表达水平。

1.2 klotho 蛋白的病理生理作用

Ohnishi M 等研究表明:Klotho 基因敲除的小鼠出现极大地寿命缩短(平均寿命为 60 天),而野生型鼠的寿命为 3 年。而且,表现出很多生理的、生化的、形态学的持续的过早老化的特征,包括驼背、运动失调、性腺功能减退、不孕、严重的骨骼肌肉萎缩、肺气肿和骨量减少,广泛的皮肤、肠、胸腺、脾脏的萎缩^[20]。

Klotho 蛋白通过影响成纤维生长因子 (FGFs)(包括

* 基金项目:黑龙江省留学归国科学基金项目(LC2009C34)

作者简介:武晓碧(1989-),女,硕士研究生,主要研究方向:内分泌与代谢病,电话:15504660612,E-mail:282487201@qq.com

[△] 通讯作者:汪晓霞,教授,硕士,E-mail:xiaoxiawang2005@hotmail.com

(收稿日期:2016-04-25 接受日期:2016-05-18)

FGF-19 和 FGF-23) 的活性, 在能量代谢和矿物质代谢(特别是钙和磷)的生理调节中发挥不同的作用^[20]。分泌型 klotho 蛋白(KL), 在体内仅表达于有限的组织, 却可以在全身发挥作用^[16]。表明 KL 可以像激素一样发挥作用。近年来, 文献报道, KL 可以在抑制组织和细胞的氧化应激、炎症反应、延缓衰老、和 Wnt 信号通路等方面发挥重要作用^[19]。Y. Haruna 等研究证明, 在肾小球肾炎的动物模型中, KL 的过表达可以修复肾脏线粒体的功能, 并抑制线粒体 DNA 损害和加速的细胞衰老和凋亡。这些结果均表明 KL 的过表达可以抵抗氧化应激^[21]。在链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠模型中, KL 缺乏加重肾功能损害: 加重肾脏肥大、加重肾小球系膜细胞的扩张和加重肾小球纤维化。膜型 klotho 蛋白是 FGF-23 的共同受体, 具有钙磷调节作用, FGF-23 和 klotho 缺乏的鼠具有相同的表型: 高磷血症、高钙血症和骨化三醇水平升高^[20,21]。

在人类中, KL 的水平随着年龄增长而下降^[22], 然而, 慢性肾脏病(CKD)的患病率却随着年龄增长而增加^[23]。70 岁时, 人体内 KL 的水平仅仅是 40 岁的一半^[22]。老年人口中 CKD 的患病率包括糖尿病肾病(DN)高于年轻人口^[22-24]。所以, CKD 是年龄相关的疾病。动脉硬化、高血压、新生血管形成都和 CKD 相关^[25]。DN 是 CKD 最常见的形式, 也是引起终末期肾病(ESRD)最主要的原因^[26]。据统计, 有 30%-40% 的 1 型糖尿病和 5%-10% 的 2 型糖尿病最终发展为 ESRD。传统的治疗, 例如严格的血糖控制和其他抗代谢药物的应用不能完全阻止 DN 的进展^[27]。

2 Klotho 蛋白在糖尿病肾病肾损害中的作用机制

Cheng MF 等研究表明, 在糖尿病肾病中, 高血糖可以引起肾功能的恶化和 KL 的表达降低。在 STZ 诱导的糖尿病大鼠中, KL 的降低可以被胰岛素纠正高血糖或者抗氧化剂清除氧自由基后升高^[19]。KL 的表达在糖尿病大鼠膜型和慢性肾衰竭的病人中明显降低^[28]。糖尿病大鼠中, 肾脏和肾小管高血糖的条件下, KL 的表达减少, 而 KL 的表达减少和 DN 的发生相关^[29]。KL 的缺陷可以作为像致病因素一样的生物标记物来预测肾病的进展和进一步的并发症^[29]。

2.1 调节矿物质代谢

KL 是 FGF23 的共同受体, 和 FGFR1c, 3c 和 4 具有高度亲和力。FGF23/KL 的主要作用是减轻磷负荷。在肾脏近曲小管, FGF23 通过抑制 25 羟化 D-1 α -羟化酶(CYP27B1)和刺激 24-羟化酶(CYP24A1), 下调 1,25(OH)₂ 维生素 D 的表达和减少顶端质膜磷酸盐重吸收转运体 NaPi-IIa^[30]。所以, FGF23/KL 可以减少肾小管磷酸盐的重吸收, 引起尿磷排泄增加和减少维生素 D 引起的肠道磷重吸收, 以减轻磷负荷。在 CKD 及糖尿病肾病患者中, 因 KL 的缺乏, 患者表现出血管钙化的高发病率、高血磷和骨质疏松的高发。而 KL 可以通过增加磷酸盐在尿中的排泄、也可直接作用于血管平滑肌, 从而抑制磷的重吸收, 减少血清中磷酸盐的浓度, 以缓解 DN 病人的血管钙化^[30]。

2.2 抗氧化应激作用

在糖尿病肾病中, 高血糖可以引起肾小球系膜细胞中活性氧簇(ROS)的过量产生, 从而引起对这些细胞的损害。临床中, 各种抗氧化剂的应用可以改善血肌酐、尿素氮水平。Cheng MF

研究表明, KL 过表达的转基因小鼠中, 肌肉中有较高超氧化物歧化酶-2(SOD2)的表达和较低的 FOXOs 的水平, 除此之外, KL 通过降低尿 8-OHdG (氧化应激对 DNA 损害的标记物)水平而降低氧化应激^[19]。而且, 这些大鼠在注射致死剂量的百草枯(一种可以产生 ROS 的除草剂)后依然存活, 表明 KL 的过表达可以增加对氧化应激的抵抗。KL 抑制叉头框蛋白 FOXOs 磷酸化而活化 FOXOs 转录因子, 促进其向核内转移, 核内 FOXOs 与 SOD2 启动子结合, 上调 SOD2 和过氧化氢酶-1 的表达, 发挥抗氧化作用。实验动物模型中肾脏在过氧化氢损害后, KL 的表达显著减少^[19]。而且, 在缺血性肾损害和急性肾损伤时, KL 的过表达可以阻止其进展。所以, 在 DN 中, 抗氧化剂可以通过 KL 的表达对氧化应激提供有效的保护^[12]。

2.3 抗肾脏纤维化作用

Yi Lin 等的研究发现, TGF β 1 信号通路和哺乳动物的雷帕霉素靶点(mTOR)信号通路是早期 DN 发展的重要的信号通路^[30]。而 KL 缺陷可以增强糖尿病肾病中 TGF β 1 和 mTOR 信号通路, 从而加重肾功能损害^[31]。

Yi Lin 的研究表明在 DN 中, KL 的缺乏增加细胞信号传导分子 Smad2 的磷酸化 Smad2 的表达, 和 TGF β 1 的关键的下游信号通路。在糖尿病小鼠中, 内生的 klotho 是 TGF β 1 信号通路的重要的反向调节因子。在人类和动物的 DN 中, TGF β 1 的表达增加可以增加肾纤维化的发病率。抑制 TGF β 1 可以阻止高血糖引起的胶原合成, 阻止肾小球纤维化和肾功能不全^[32]。KL 可以抑制单侧输尿管结扎术引起的肾纤维化, 类似于抑制 TGF β 1 信号通路^[33]。

2.4 抗肾小球肥大作用

Yi Lin 研究表明: 和未患糖尿病的大鼠相比, 糖尿病大鼠肾脏 mTOR 的磷酸化显著增加^[31], KL 的缺乏进一步增强 mTOR 的磷酸化。在 DN 中, 肾脏 KL 缺乏时, mTOR 信号通路的活化增加, 可使 mTORC1 下游的效应器: mTOR 的磷酸化和 S6 的磷酸化的活化增加^[31]。证据表明基质蛋白的合成在 mTOR 信号通路的激活后显著增加, 而基质蛋白的增加使基底膜增厚和肾小球系膜基质扩张^[34]。在糖尿病大鼠动物模型中, 雷帕霉素可以通过降低肾脏 mTOR 的活性而改善肾小球的病变: 肾小球肥大、基底膜增厚和系膜基质的累积^[35]。研究表明, 在糖尿病大鼠肾脏的足细胞中, mTOR 复合体 1(mTOR1)的活性增强^[36]。大量的研究均证明, mTOR 的激活在肾脏肥大和足细胞损伤中发挥关键作用, 而在 DN 中, 它可以导致肾功能的逐渐丧失。

2.5 抗凋亡作用

研究发现 KL 缺失时, Wnt 信号通路的活化增强, 细胞凋亡显著增加。Klotho 基因敲除的小鼠中, Wnt 信号通路增强, 而 Klotho 基因过表达可抑制 Wnt 信号通路。动物实验证明, KL 通过上调热休克蛋白 70(Hsp70), 调节一氧化氮(NO)的合成, 保护细胞内皮功能, 在肾小管细胞中发挥抗凋亡作用。糖尿病患者中 KL 缺乏可以细胞内皮的功能紊乱和炎症反应。KL 缺失时, 上调 p53 和 p21 的表达, 二者的上调活化 caspase-3, 肾小管上皮细胞凋亡增加^[37]。

2.6 抑制炎症作用

KL 的表达在全身的和局部的炎症反应中都明显下调。KL

通过抑制细胞核 NF κ B 的激活,减少其导致的炎症因子的产生和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)对肾脏细胞的刺激^[38,39]。KL 抑制 p38 激酶,特定的阻止 RelA 丝氨酸(Ser)536 的磷酸化和随之的 NF κ B 依赖的大量的细胞因子促进剂的补充。这些均表明 KL 是通过非经典的 NF κ B 的激活途径 (RelA 在反式激活区域的磷酸化)调节 NF κ B 连接的炎症的细胞因子、趋化因子和生长因子^[39],发挥抗炎作用。Yanhua Zhao 等的研究也表明:糖尿病动物模型中,KL 可以增加 NF κ B 的激活,减少炎症因子的产生,提示 KL 可以通过抑制 NF κ B 激活引起的炎症因子、趋化因子而发挥抗炎作用,从而对肾脏起保护作用^[36]。

3 前景和展望

尽管 KL 仅表达于有限的器官,循环中 KL 水平也非常低,但是 KL 却影响着许多重要的生物学功能,从磷酸盐的代谢到能量的代谢。这些功能的调节障碍会产生大量生理学的影响,最终导致疾病的发生^[40-42]。研究表明 KL 具有增加对氧化应激的抵抗、抗肾脏纤维化、抗肾小球肥大和抗炎的作用。组织中充足的 KL 水平可以可以提供对氧化应激和炎症的双重保护,同时,KL 的减少可以导致氧化应激的增加、NF κ B 的激活和加速糖尿病肾病的进展。Cheng MF 的研究表明在糖尿病肾病大鼠中,不依赖于血糖改变的情况下,胰岛素、根皮苷、抗氧化剂钛能够逆转高血糖引起的 KL 的低表达而保护肾功能^[19]。血管紧张素受体抑制剂和他汀类药物可以通过其抗炎反应而增加 KL 的表达^[43]。这些研究均提示 KL 可以作为糖尿病肾病治疗的一个新靶点,这对治疗糖尿病肾病药物的研究和具有重要的指导意义。

总而言之,目前的研究表明 DN 是一种持续性的 KL 缺失状态,随着 DN 进展,血清和尿液中 KL 进一步下降。人体内,KL 有重要的临床收益,可以为糖尿病肾病的治疗措施提供新的思路。

参考文献(References)

- [1] Mazza AD, Morley JE. Update on diabetes in the elderly and the application of current therapeutics [J]. Am Med Dir Assoc, 2007, 8(8): 489-492
- [2] Verzola D, Gandolfo MT, Gaetani G, et al. Accelerated senescence in the kidneys of patients with type 2 diabetic nephropathy [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2008, 295(5): 1563-1573
- [3] Biber J, Hernando N, Forster I, et al. Regulation of phosphate transport in proximal tubules[J]. Pflugers Arch, 2009, 458(2): 39-52
- [4] Hu MC, Shi M, Zhang J, et al. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule[J]. FASEB J, 2010, 24(6): 3438-3450
- [5] 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
- [6] Kuro-o M. Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence[J]. Biol Chem, 2008, 389(3): 233-241
- [7] Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, et al. Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho [J]. Biol Chem, 2005, 280(45): 8029-8034
- [8] Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho[J]. Science, 2005, 309(5742): 1829-1833
- [9] Masuda H, Chikuda H, Suga T, et al. Regulation of multiple ageing-like phenotypes by inducible klotho gene expression in klotho mutant mice[J]. Mech Ageing Dev, 2005, 126(12): 1274-1283
- [10] 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
- [11] Sugiura H, Yoshida T, Tsuchiya K, et al. Klotho reduces apoptosis in experimental ischaemic acute renal failure [J]. Nephrol Dial Transplant, 2005, 20(12): 2636-2645
- [12] Haruna Y, Kashihara N, Satoh M, et al. Amelioration of progressive renal injury by genetic manipulation of Klotho gene [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(7): 2331-2336
- [13] Osamu A, Kimihiko N, Tomohiro T. Decreased renala-Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion [J]. International Society of Nephrology, 2012, 81(6): 539-547
- [14] Hu MC, Kuro O, Moe OW, et al. Klotho and Kidney disease [J]. Nephrol, 2010, 23(8): 136-144
- [15] Hu MC, Kuro O, Moe OW, et al. The emerging role of Klotho in clinical nephrology[J].Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(7): 2650-2657
- [16] Hu MC, Kuro O, Moe OW, et al. Klotho and chronic kidney disease [J]. Contrib Nephrol, 2013, 180(1): 47-63
- [17] Nabeshima Y. The discovery of α -Klotho and FGF23 unveiled new insight into calcium and phosphate homeostasis [J]. Cell. Mol. Life Sci, 2008, 65(20): 3218-3230
- [18] Nabeshima Y, Imura H. α -Klotho: a regulator that integrates calcium homeostasis[J]. Am. J.Nephrol, 2008, 28(3): 455-464
- [19] Cheng MF, Chen LJ, Cheng JT, et al. Decrease of Klotho in the Kidney of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Biomed Biotechnol, 2010, 390(4): 512-853
- [20] Ohnishi M, Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian ageing[J]. FASEB J, 2010, 24(4): 3562-3571
- [21] Quarles LD. Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: implications in chronic kidney disease[J]. Exp Cell Res, 2012, 318(9): 1040-1048
- [22] Wang Y, Sun Z. Current understanding of klotho[J]. Ageing Res Rev, 2009, 8(1): 43-51
- [23] Weinstein JR, Anderson S. The aging kidney: physiological changes [J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2010, 17(2): 302-307
- [24] Abdelhafiz AH, Brown SH, Bello A, et al. El Nahas M.Chronic kidneydisease in older people: physiology, pathology or both? [J]. Nephron Clin Pract, 2010, 116(5): 19-24
- [25] Porazko T, Kuniar J, Kusztal M, et al. Increased aortic wall stiffness associated with low circulating fetuin A and high C-reactive protein in predialysis patients[J]. Nephron Clin Pract, 2009, 113(2): 81-87
- [26] Ruggerenti P, Remuzzi G. Nephropathy of type-2 diabetes mellitus [J]. Soc Nephrol., 1998, 9(7): 2157-2169
- [27] Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T, et al. In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin-II induced renal damage [J]. Hypertension, 2002, 39(2): 838-843
- [28] Seiler S, Wen M, Roth HJ, et al. Plasma Klotho is not related to kid-

- ney function and does not predict adverse outcome in patients with chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2013, 83(8): 121-128
- [29] Sridevi Devaraj. Validation of an Immunoassay for Soluble Klotho Protein Decreased Levels in Diabetes and Increased Levels in Chronic Kidney Disease[J]. *Clin Pathol*, 2012, 137(3): 479-485
- [30] María C.I, María V. P, María D. S, et al. Klotho, phosphate and inflammation/ageing in chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(4): 6-10
- [31] Yi Lin, Makoto, Kuro-o, et al. Genetic Deficiency of Anti-Aging Gene Klotho Exacerbates Early Nephropathy in STZ-Induced Diabetes in Male Mice[J]. *Endocrinology*, 2013, 8(10): 1-9
- [32] Chiarelli F, Gaspari S, Marcovecchio ML, et al. Role of growth factors in diabetic kidney disease [J]. *Horm Metab Res*, 2009, 41(2): 585-593
- [33] Doi S, Zou Y, Togao O, et al. Klotho inhibits transforming growth factor-1 (TGF-1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice[J]. *Biol Chem*, 2011, 286(3): 8655-8665
- [34] Mariappan MM. Signaling mechanisms in the regulation of renal matrix metabolism in diabetes[J]. *Exp Diabet Res*, 2012, 20(8): 749-812
- [35] W Levine JS. Mammalian target of rapamycin and the kidney.II. Pathophysiology and therapeutic implications[J]. *Physiol Renal Physiol*, 2012, 303(6): 180-191
- [36] Inoki K, Mori H, Wang J, et al. mTORC1 activation in podocytes is acritical step in the development of diabetic nephropathy in mice[J]. *Clin Invest*, 2011, 121(6): 2181-2196
- [37] Lin Y, Fergusson MM, Castilho RM, et al. Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging [J]. *Science*, 2007, 317(5839): 803-806
- [38] Yanhua Zhao, Srijita Banerjee, Nilay Dey, et al. Klotho Depletion Contributes to Increased Inflammation in Kidney of the db/db Mouse Model of Diabetes via RelA (Serine)536 Phosphorylation [J]. *Diabetes*, 2011, 60(7): 1907-1916
- [39] Nzietchueng. Klotho KL-VS genotype is involved in blood pressure regulation[J]. *Clin. Chim. Acta*, 2011, 412(19): 1773-1777
- [40] Oguro, R. Association of carotid atherosclerosis with genetic polymorphisms of the Klotho gene in patients with hypertension [J]. *Geriatr. Gerontol Int*, 2010, 10(4): 311-318
- [41] Wang HL. A potential regulatory single nucleotide polymorphism in the promoter of the Klotho gene may be associated with essential hypertension in the Chinese Han population[J]. *Clin. Chim. Acta*, 2010, 411(6): 386-390
- [42] Tangri N, Alam A, Wooten EC. et al. Lack of association of Klotho gene variants with valvular and vascular calcification in Caucasians: a candidate gene study of the Framingham Offspring Cohort [J]. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2011, 26(12): 3998-4002
- [43] 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

(上接第 2196 页)

- [27] Hu J, Cao Y, Wu T, et al. 3D angioarchitecture changes after spinal cord injury in rats using synchrotron radiation phase-contrast tomography[J]. *Spinal Cord*, 2015, 53(8): 585-590
- [28] Kao CH, Chio CC, Lin MT, et al. Body cooling ameliorating spinal cord injury may be neurogenesis-, anti-inflammation- and angiogenesis-associated in rats[J]. *J Trauma*, 2011, 70(4): 885-893
- [29] Faith A Bazley, Nikta Pashai, Candace L Kerr, et al. The Effects of Local and General Hypothermia on Temperature Profiles of the Central Nervous System Following Spinal Cord Injury in Rats [J]. *Ther Hypothermia Temp Manag*, 2014, 4(3): 115-124
- [30] Morizane K, Ogata T, Morino T, et al. A novel thermoelectric cooling device using Peltier modules for inducing local hypothermia of the spinal cord: the effect of local electrically controlled cooling for the treatment of spinal cord injuries in conscious rats [J]. *Neurosci Res*, 2012, 72(3): 279-282
- [31] Topuz K, Colak A, Cemil B. Combined hyperbaric oxygen and hypothermia treatment on oxidative stress parameters after spinal cord injury: an experimental study[J]. *Arch Med Res*, 2010, 41(7): 506-512
- [32] Hohlfeld R, Kerschensteiner M, Meinl E. Dual role of inflammation in CNS disease[J]. *Neurology*, 2007, 68(suppl 3): S58-63
- [33] Wang D, Zhang J. Effects of hypothermia combined with neural stem cell transplantation on recovery of neurological function in rats with spinal cord injury[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(3): 1759-1767
- [34] Karamouzian S, Akhtarshomar S, Saied A, et al. Effects of methylprednisolone on neuroprotective effects of delay hypothermia on spinal cord injury in rat[J]. *Asian Spine J*, 2015, 9(1): 1-6
- [35] Wang J, Pearse DD. Therapeutic Hypothermia in Spinal Cord Injury: The Status of Its Use and Open Questions [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8): 16848-16879
- [36] Darwazeh R, Yan Y. Mild hypothermia as a treatment for central nervous system injuries: Positive or negative effects [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(28): 2677-2686