



环孢素 A 对肝细胞中磷酸化 AKT 蛋白表达的影响

杨 柳¹, 刘晓军², 王宏宇¹, 曹 永¹, 马永华¹, 徐 春¹

(武警总医院内分泌科, 北京 100039; 2. 武警总医院药剂科, 北京 100039)

【摘要】 目的 观察环孢素 A (cyclosporin A, CsA) 对肝细胞磷酸化 AKT (phosphorylated AKT, P-AKT) 表达的影响, 探讨 CsA 导致胰岛素抵抗的机制。方法 本研究分两部分: (1) 体外研究: 用不同浓度 CsA (0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$) 作用于人肝细胞 (HL7702 细胞) 48 h, 用 Western blot 方法检测 P-AKT 蛋白的表达水平。 (2) 体内研究 (动物实验): 建立环孢素 A 诱发的大鼠糖尿病模型, 用免疫组化方法分析 P-AKT 蛋白在糖尿病大鼠肝细胞中的表达水平。结果 (1) 各浓度 (0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$) CsA 组与对照组相比, HL7702 肝细胞中的 P-AKT 蛋白的表达呈现逐渐下降趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$)。 (2) 环孢素 A 引起大鼠血糖升高, 在服用环孢素 A 的第 5 个月, 大鼠平均血糖为 9.28 mmol/L, 说明环孢素 A 诱导的糖尿病大鼠模型建立成功, 糖尿病大鼠肝细胞中 P-AKT 蛋白的表达明显低于服药前和正常对照组 ($P < 0.05$)。结论 服用治疗剂量的环孢素 A 导致大鼠血糖升高, 环孢素 A 抑制大鼠肝细胞中 P-AKT 的表达, 环孢素 A 抑制人肝细胞 HL7702 中 P-AKT 的表达, 提示影响 PI3K/AKT 信号通路可能是环孢素 A 导致胰岛素抵抗的机制之一。

【关键词】 环孢素 A; 胰岛素抵抗; 移植后糖尿病; AKT; P-AKT

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)06-0018-05

doi: 10.3969.j.issn.1671-7856.2016.06.004

Effects of cyclosporine A on the expression of phosphorylated AKT in human hepatocytes in vitro and rat hepatocytes in vivo

YANG Liu¹, LIU Xiao-jun², WANG Hong-yu¹, CAO Yong¹, MA Yong-hua¹, XU Chun¹

(Department of Endocrinology, 2. Department of Pharmacology, the General Hospital of the Armed Police Forces, Beijing 100039, China)

【Abstract】 Objective To observe the effects of cyclosporin A on the expression of phosphorylated AKT in hepatocytes, and to investigate the mechanism of insulin resistance caused by cyclosporin A. **Methods** This study included two parts. 1. In vitro experiment; Human hepatocyte HL77022 cell line was cultured at different concentrations of cyclosporin A (0.1 $\mu\text{mol/L}$, 1 $\mu\text{mol/L}$, 5 $\mu\text{mol/L}$) for 48 hours. The expressions of phosphorylated AKT (P-AKT) in HL77022 cells were measured by Western blot assay. 2. Rat in vivo experiment; SD rats were randomly divided into 2 groups. The rats in the control group were administrated with distilled water 1 mL/Kg/d. The rats in the cyclosporine group were administrated with cyclosporine 25 mg/Kg/d. The total experiment time was 5 months. The levels of fasting blood glucose and insulin were tested at the end of the experiment. The insulin resistance index and insulin sensitivity index were calculated. The expression of P-AKT in the rat hepatocytes was measured by immunohistochemistry. **Results** 1. Each group of the HL7702 cells treated by CsA (0.1 $\mu\text{mol/L}$, 1 $\mu\text{mol/L}$, 5 $\mu\text{mol/L}$) showed a significantly decreased

[基金项目] 武警总医院科研项目 (编号: WZ20130403)。

[作者简介] 杨柳 (1986 -), 女, 硕士研究生, 专业: 内分泌代谢疾病。Email: yll3949648250@163.com。

[通讯作者] 徐春 (1967 -), 女, 主任医师, 硕士研究生导师, 专业: 内分泌代谢疾病。Email: wjxchun@sina.com。

expression of P-AKT ($P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.01$). 2. After 5 months of therapy, the fasting blood glucose level of rats in the cyclosporine group was 9.28 mmol/L, indicating that cyclosporine-induced diabetic rat models were established. The insulin sensitivity index in the cyclosporine group was lower than that in the control group ($P < 0.05$). The expression of P-AKT in liver in the cyclosporine group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** Therapeutic dose of cyclosporine has hyperglycemic effects on rats. Cyclosporine can reduce the expression of phosphorylated AKT in hepatic tissue in rats and also decrease the expression of P-AKT in human hepatocyte HL77022 cells, which indicate that cyclosporine may cause insulin resistance by interfering PI3K/AKT signal transduction pathway.

【Key words】 Cyclosporin A; Insulin resistance; Post-transplantation diabetes mellitus; AKT; P-AKT

移植术后糖尿病 (post-transplantation diabetes mellitus, PTDM) 作为器官移植术后最为常见和最为严重的并发症之一,受到人们的广泛关注。PTDM 的高发病率(2% ~ 53%)以及带来的一些诸如术后反复感染、移植物失活、心脑血管疾病发生率增加等问题,显著影响移植后患者的愈合、生活质量和长期存活率。大量临床数据和研究表明年龄、性别、种族、家族史、术后急性排斥反应、免疫抑制剂、病毒感染等都是导致 PTDM 的危险因素,其中年龄、性别、种族和家族史等因素都是不可控的,而免疫抑制剂作为一个可调控的独立危险因素就显得尤为重要^[1,2]。器官移植患者术后使用的免疫抑制剂主要可分为糖皮质激素和钙调磷酸酶抑制剂 (calcineurin inhibitor, CNI) 两大类。目前认为糖皮质激素主要是通过促进肝糖原异生和加重外周胰岛素抵抗导致血糖升高,而 CNI 导致血糖升高的机制尚不清楚,目前的研究提示,CNI 导致胰岛 β 细胞损伤、凋亡,减少胰岛素 (insulin, Ins) 的合成和分泌,产生胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)^[3-8]。胰岛素受体后水平信号传导障碍是 IR 发生最常见和最重要的环节,胰岛素主要是通过磷酸酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 途径行使调控糖代谢的功能^[9,10]。因此,PI3K/Akt 信号通路的传导障碍应是 IR 发生的主要原因。AKT 是一种丝/苏氨酸激酶 (serine-threonine kinase),因与蛋白激酶 A 和蛋白激酶 C 有很高的同源性,故又称为蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB),其处于 PI3K/AKT 信号通路的中心环节,通过磷酸化和去磷酸化来控制反应进行,主要负责由 PI3K 始动的生物信息的传导,在细胞代谢、细胞周期、细胞生长、细胞凋亡、胰岛素分泌等多种生理过程中起着重要作用^[11-13]。我们曾经用临床剂量的环孢素 A (CNI 的代表药之一) 喂大鼠,在服药 3 个月后出现血糖的升高,环孢素 A

诱发的糖尿病大鼠表现出胰岛素 B 细胞的坏死和胰岛素的抵抗^[5]。为进一步研究环孢素 A 导致胰岛素抵抗的机制,本研究 1. 通过体外细胞培养,分析环孢素 A 对正常人肝细胞(胰岛素主要靶细胞之一)中磷酸化 AKT (phosphorylated AKT, P-AKT) 和 AKT 表达的影响,2. 通过动物实验,分析环孢素 A 诱发的糖尿病大鼠肝脏组织 P-AKT 的表达,获得环孢素 A 干扰胰岛素信号传导的证据,揭示钙调磷酸酶抑制剂升高血糖的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞培养部分:环孢素 A (cyclosporin A, CsA) 购自上海 Beyotime 公司,人正常肝细胞-HL7702 细胞系,购自于上海中科院细胞所。兔来源 phospho-AKT (Ser473) 多克隆抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司,兔来源 AKT 多克隆抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.1.2 动物实验部分:

1.1.2.1 动物:SPF 级 SD 雄性 4 周大鼠 20 只,体重(200.0 ± 10.0)g,来源于军事医学科学院实验动物中心【SCXK(军) 2014 - 005】。大鼠饲养在相同的鼠隔离系统内,居住环境经过无菌处理,温度 22℃ ± 3℃;12 h 白天,12 h 夜晚(早 7:00 开灯)。标准的鼠粮:含钙 0.98%,含磷 0.75%,含维生素 D3 1500 IU/kg,含镁 0.3%;自来水。组织取材于武警总医院医学实验中心进行。

1.1.2.2 药物:环孢素 (CsA) 由诺华公司提供。将药品用蒸馏水溶解,稀释至 25 mg/mL,备喂养用。

1.2 方法

1.2.1 通过细胞培养观察不同浓度的环孢素 A 对人肝细胞 (HL7702 细胞) 表达磷酸化 AKT 和 AKT 的影响:

1.2.1.1 药物浓度及实验分组:实验分为对照组、

DMSO 组和实验组。对照组仅加细胞培养液。实验组加入不同浓度的 CsA (0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$)。因 CsA 粉剂不溶于水,根据 CsA 粉剂说明书,采用 DMSO 溶解,需增加 DMSO 组,DMSO 组只加细胞培养液和 DMSO,由于 CsA 各组 (0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$),分别含 DMSO 的浓度为 0.001%、0.01%、0.05%,故 DMSO 组中 DMSO 的浓度最终稀释至 0.05%。

1.2.1.2 细胞蛋白的提取和蛋白浓度的测定:将 HL7702 细胞接种于六孔培养板中,置入三气组织培养箱中培养 24 h。

吸取原培养液,每孔加入含不同浓度 CsA (0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$) 的培养液、单纯培养液或含 DMSO 的培养液 2 mL,继续培养 48 h。去除六孔板培养液,PBS 洗涤两遍。加入 80 μL 裂解液,充分裂解 10 min。10 000 ~ 14 000 r/min 离心 10 ~ 15 min,取上清液,得到 HL7702 细胞蛋白。将浓度为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 BSA 按 0、1、2、4、8、12、16、20 μL 分别加入 EP 管中,补加高纯水到 20 μL 。将每蛋白样品取 5 μL 加入 BCA 工作液,在水浴箱 (60 $^{\circ}\text{C}$),30 min。在酶标仪上测定 562 nm 波长的吸光度值,计算蛋白浓度。

1.2.1.3 Western blotting 法检测 P-AKT 和 AKT 蛋白的表达:(1) SDS-PAGE 电泳:在加样孔内点入上样蛋白(取细胞蛋白 50 μg ,与等体积 2 \times SDS 上样缓冲液混合,沸水中加热变性 5 min,1 000 r/min 离心 5 min)和标准蛋白 Marker 5 μL ,50 V 电压 30 min,待溴酚蓝到达分离胶与浓缩胶交界处时,更换电压至 90 V,继续电泳 90 min。(2)转膜。(3)封闭。(4)免疫反应:①取出已封闭的膜,浸于一抗(抗 P-AKT 抗体或抗 AKT 抗体)稀释液中,过夜,用 TBST 洗 3 次,每次 5 min。②将膜再浸于 1:5000 二抗稀释液中,室温孵育 1 h,然后用 TBST 洗 3 次,每次 5 min。(5)Odyssey 双色红外荧光成像系统扫描,并分析数据。

1.2.2 动物实验:

1.2.2.1 环孢素 A 诱发的糖尿病大鼠模型的建立:经过 1 周的适应生活,将大鼠随机分 2 组,每组 10 只,对照组:蒸馏水 1 mL/(kg·d),环孢素 A 组:环孢素 A 25 mg/(kg·d)。均经胃管灌注给药,根据我们以往实验的结果,设计本实验用药时间为 5 个月,在实验结束时环孢素 A 组大鼠因灌胃给药损伤死亡 2 只。测定两组给药前及给药第 5 个月的空腹

血糖,用放射免疫分析法测定血清胰岛素 (INS) 水平,根据以下公式计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 和胰岛素敏感指数 (HOMA- β): $\text{HOMA-IR} = \text{空腹胰岛素} \times \text{空腹血糖} / 22.5$, $\text{HOMA-}\beta = 20 \times \text{空腹胰岛素} / (\text{空腹血糖} - 3.5)$,其中空腹胰岛素单位为 mU/L,空腹血糖单位为 mmol/L。

1.2.2.2 用免疫组化方法测定大鼠肝细胞 P-AKT 的表达:制备肝脏组织石蜡切片,进行 P-AKT 的免疫组化染色。

1.2.3 统计学方法:采用 SPSS 19.0 进行统计学分析,计量资料采用均数士标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。给药前两组大鼠的血糖、胰岛素分泌指数、胰岛素抵抗指数的比较采用独立样本 t 检验;给药后两组大鼠的血糖、胰岛素分泌指数、胰岛素抵抗指数的比较采用协方差分析,以给药前水平作为协变量, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。大鼠 P-AKT 表达强度比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。人肝细胞 (HL7702 细胞) 磷酸化 AKT 的表达强度比较采用单因素方差进行分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。组间的两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度的环孢素 A 对 HL7702 细胞中 AKT 和 P-AKT 蛋白表达的影响

不同浓度的环孢素 A 作用 48 h 后,通过 Western blot 方法检测 HL7702 肝细胞中 AKT 和 P-AKT 蛋白的表达结果,如表 1 所示:在 AKT 蛋白的表达中,各浓度 CsA 组分别与对照组相比,均无明显差异 ($P > 0.05$)。在 P-AKT 蛋白的表达中,0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ CsA 组分别与对照组相比,P-AKT 蛋白的表达呈现逐渐下降趋势,差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$)。

2.2 环孢素 A 对大鼠血糖、胰岛素抵抗指数、胰岛素敏感指数的影响

给药前两组大鼠空腹血糖差异无显著性 ($P > 0.05$)。实验过程中环孢素 A 组大鼠因灌胃给药损伤死亡 2 只。给药 5 个月后环孢素 A 组剩余 8 只大鼠空腹血糖均大于 7.0 mmol/L,平均血糖为 9.28 mmol/L,糖尿病发生率为 100%,糖尿病模型建立。协方差分析结果显示:给药 5 个月后与对照组相比,环孢素组血糖显著增高 ($P < 0.05$),给药前的血糖对给药后血糖无显著影响;给药 5 个月后与对照组

相比,环孢素组胰岛素抵抗指数显著增高 ($P < 0.05$),给药前胰岛素抵抗指数对给药后胰岛素抵抗指数无显著影响;给药 5 个月后与对照组相比,环孢素组胰岛素敏感指数显著降低 ($P < 0.05$),给药前胰岛素敏感指数对给药后胰岛素敏感指数无显著影响(表 2)。

2.3 环孢素 A 对大鼠肝脏 P-AKT 表达的影响

分别在 100 倍和 200 倍光学显微镜下观察两组大鼠肝脏组织中 P-AKT 的免疫组化表达,阳性细胞内可见褐黄色颗粒散在分布。通过 χ^2 检验,得出 $P < 0.001$,差异有统计学意义(表 3)。

3 讨论

环孢素 A(CsA)是一种由真菌代谢产生的含 11 个氨基酸的环形多肽类物质,通过抑制神经钙蛋白,作用于 T 细胞活化过程中的信号传导,抑制 T 细胞的增殖和分化,达到免疫抑制的效果,于 20 世纪 80 年代起开始广泛应用于器官移植术后。临床数据显示环孢素 A 可以增加器官移植术后糖尿病

的发生风险^[1],本研究给 SD 大鼠服用临床治疗剂量的环孢素 A,在服药 5 个月,大鼠血糖持续升高,达到糖尿病的诊断标准,成功建立了环孢素 A 诱发的糖尿病大鼠模型,糖尿病大鼠的胰岛素抵抗指数明显增加,说明环孢素 A 具有增加胰岛素抵抗的作用。

AKT 是 PI3K/Akt 信号通路的关键环节,当被激活后,可以活化多种底物,产生胰岛素的代谢效应,AKT 激活的主要机制是磷酸化,而它的磷酸化和去磷酸化,需要 Thr308 和 Ser473 两个磷酸化位点来调节。Thr308 位于 AKT 的催化域,该位点的激活只增加大约 10% 的 AKT 激酶活性;而 Ser473 位于 AKT 的调节域,是 AKT 完全磷酸化所必需的位点^[14]。当 Thr308 和 Ser473 两个位点的全都磷酸化时,AKT 达到最大激活状态。本研究分析的是 Ser473 磷酸化 AKT。当胰岛素通过血液循环到达肝脏、骨骼肌、脂肪等靶组织后,作用于细胞膜上的胰岛素受体,使胰岛素受体酪氨酸位点自磷酸化,磷酸化激活的胰岛素受体使胰岛素受体底物-1 (insulin receptor substrate 1, IRS-1) 发生磷酸化,

表 1 不同浓度的环孢素 A 作用肝细胞 HL7702 后,P-AKT、AKT 蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Expression of P-AKT and AKT of HL7702 hepatocytes after CSA administration in different concentrations($\bar{x} \pm s$)

| 组别 Groups | AKT/ACTIN | P-AKT/ACTIN | P-AKT/AKT |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 对照组 Control | 1.407 ± 0.056 | 0.414 ± 0.047 | 0.294 ± 0.023 |
| 0.05% DMSO | 1.412 ± 0.045 [△] | 0.411 ± 0.043 [△] | 0.291 ± 0.021 [△] |
| 0.1 μmol/L CSA | 1.414 ± 0.052 [△] | 0.303 ± 0.060 [*] | 0.214 ± 0.036 [#] |
| 1 μmol/L CSA | 1.391 ± 0.040 [△] | 0.205 ± 0.045 [#] | 0.147 ± 0.028 [#] |
| 5 μmol/L CSA | 1.403 ± 0.063 [△] | 0.200 ± 0.063 [#] | 0.142 ± 0.039 [#] |

注:与对照组比较, $\Delta P > 0.05$, $* P < 0.05$, $\# P < 0.01$ 。

Note. Compared with the control group, $\Delta P > 0.05$, $* P < 0.05$, $\# P < 0.01$.

表 2 给药前后血糖、胰岛素抵抗指数、胰岛素敏感指数的比较

Tab.2 Comparison of the blood sugar, insulin resistance index, and insulin sensitive index before and after drug administration

| 组别 Groups | 空腹血糖 FBG | | 胰岛素抵抗指数 HOMA-IR | | 胰岛素敏感指数 HOMA-β | |
|----------------------|-------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| | 前 Before | 后 After | 前 Before | 后 After | 前 Before | 后 After |
| 环孢素组 CSA (n = 8) | 5.29 ± 0.97 | 9.28 ± 2.11 ^{*△} | 4.22 ± 0.93 | 8.28 ± 1.93 ^{*△} | 8.87 ± 2.11 | 5.87 ± 1.01 ^{*△} |
| 对照组 Control (n = 10) | 4.97 ± 0.99 | 5.08 ± 1.05 | 3.97 ± 0.90 | 4.08 ± 0.95 | 8.18 ± 1.95 | 8.08 ± 1.87 |

注:与治疗前比较, $* P < 0.05$;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

Note. Compared with that before medication, $* P < 0.05$. Compared with the control group, $\Delta P < 0.05$.

表 3 磷酸化 AKT 在大鼠肝脏组织中的免疫组化表达

Tab.3 Phosphorylated AKT expression in the rat liver tissues. Immunohistochemical staining

| 组别 Groups | 阴性 Negative | 阳性 Positive | 总计 Total |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 环孢素 A 组 CSA | 16 (88.9%) | 2 (11.1%) | 18 (100.0%) |
| 对照组 Control | 1 (5%) | 19 (95.0%) | 20 (100.0%) |
| 总计 Total | 17 (44.7%) | 21 (55.3%) | 38 (100.0%) |

注: $\chi^2 = 28.97, \nu = 1, P < 0.001$ (双侧)。

Note. $\chi^2 = 28.97, \nu = 1, P < 0.001$ (both sides).

IRS-1 上磷酸化的酪氨酸与磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 结合,活化的 PI3K 再使 4,5-二磷酸脂酰肌醇 (PIP2) 变为磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸 (PIP3),但 PIP3 并不能直接激活 AKT,它仅可以使 AKT 聚集到靶细胞膜上,发生构象的改变,进而可以被磷酸肌醇依赖性激酶 1 (phosphoinositide-dependent kinase, PDK1) 激活, PDK1 可使 AKT 的两个磷酸化位点磷酸化,使 AKT 完全激活,随后被磷酸化的 AKT (P-AKT) 从细胞膜上释放出来,转移到胞浆内,引起各底物的磷酸化反应,最后发挥胰岛素在靶组织的生理学效应。

在环孢素 A 诱发的糖尿病大鼠的肝细胞中,我们发现 P-AKT 的表达明显低于用药前和正常对照组。在体外培养的人肝细胞 HL7702 中加入 CsA,我们同样发现肝细胞中磷酸化 AKT (P-AKT) 蛋白的表达降低,且随着 CsA 浓度的增加,P-AKT 的脱磷酸化越来越明显。提示 CsA 是肝细胞 AKT 磷酸化的负调节因素,并且 AKT 的磷酸化水平和 CsA 的浓度成反比。

磷酸化的 AKT 主要通过以下五个底物途径参与发挥胰岛素的代谢调节作用^[15,16]: (1) 使葡萄糖转运体 (主要是葡萄糖转运体 4) 从细胞内转移到细胞膜,发挥转运葡萄糖的作用。(2) 使糖原合酶激酶 3 (GSK3) Ser 位点磷酸化,抑制 GSK3 活化,激活糖原合成酶 (glycogen synthetase, GS),活化的 GS 能够促进糖原合成、抑制糖异生。(3) 可使叉头转录因子 O1 (forkhead box protein O1, FoxO1) 磷酸化后出核失活,解除对糖异生基因 PEPCK 和 G6P 的转录调控,抑制肝脏的糖异生。(4) 使 PDE3B 激活,降低 cAMP 的水平,抑制 PKA 对脂肪酶的激活,抑制脂肪分解。(5) 使转录因子 PGC-1 磷酸化,抑制肝细胞糖异生以及脂肪酸氧化。

本研究通过细胞培养和动物实验观察到环孢素 A 抑制肝细胞 P-AKT 的表达,为揭示环孢素 A 引起胰岛素抵抗的机制提供了一条线索。

参考文献:

[1] Zbiti N, Souly K, Errami Z, et al. Post-transplantation diabetes

mellitus [J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2012, 23(5): 1104 - 1108.

[2] 徐春. 器官移植术后糖尿病的发病机制与防治措施 [J]. 武警医学, 2014, 25(2): 757 - 760.

[3] Xu C, Niu YJ, Tenq YQ, et al. Tacrolimus reversibly reduces insulin secretion, induces insulin resistance, and causes islet cell damage in rats [J]. Int J Clin Pharmacol, 2014, 52(7): 620 - 627.

[4] 闫赋琴, 牛玉坚, 徐春, 等. 环孢素 A 诱发的大鼠糖尿病模型的建立及其机制的探讨 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2013, 7(21): 9586 - 9589.

[5] 王文君, 徐春, 牛玉坚, 等. 肝移植术后胰岛素敏感性和胰岛 β 细胞功能的改变 [J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(2): 133 - 135.

[6] Niu YJ, Shen ZY, Xu C, et al. Establishment of tacrolimus-induced diabetes in rat model and assessment of clinical treatments for post-transplant diabetes mellitus in liver transplant recipients [J]. Clin Lab, 2013, 59(7-8): 869 - 874.

[7] 藤稚芹, 牛玉坚, 徐春, 等. 他克莫司对大鼠血糖的影响及其作用机制 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(2): 74 - 77.

[8] Lopes P, Fuhrmann A, Sereno J, et al. Effects of cyclosporine and sirolimus on insulin-stimulated glucose transport and glucose tolerance in a rat model [J]. Transplant Proc, 2013, 45(3): 1142 - 1148.

[9] Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance [J]. J Clin Invest, 2000, 106(2): 165 - 169.

[10] 王笑, 王甄真, 陈雁. PI3K/AKT 信号通路在维持血糖平衡中的作用 [J]. 生命科学, 2013, 25(2): 133 - 139.

[11] Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway [J]. Science, 2002, 296(5573): 1655 - 1657.

[12] Manning BD, Cantley LC. Akt/pkb signaling: Navigating downstream [J]. Cell, 2007, 129(7): 1261 - 1274.

[13] Du K, Tschlis PN. Regulation of the Akt kinase by interacting proteins [J]. Oncogene, 2005, 24(50): 7401 - 7409.

[14] Woodgett JR. Recent advances in the protein kinase B signaling pathway [J]. Curr Opin Cell Biol, 2005, 17(2): 150 - 157.

[15] Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT — a major therapeutic target [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1697(1-2): 3 - 16.

[16] 李晓瑾, 母义明. AKT 信号通路在胰岛 β 细胞功能中的研究进展 [J]. 医学综述, 2012, 18(8): 1121 - 1124.

[修回日期] 2016 - 02 - 23