

# 他克莫司对大鼠肝脏组织蛋白磷酸酶 2A 和 P-AKT 表达的影响

牛玉坚<sup>1</sup>, 王德恩<sup>2</sup>, 杨柳<sup>2</sup>, 陈新国<sup>1</sup>, 王宏宇<sup>2</sup>, 徐春<sup>2\*</sup>

(1. 武警总医院器官移植科, 北京 100039; 2. 武警总医院内分泌科, 北京 100039)

**【摘要】 目的** 通过观察他克莫司对大鼠血糖、胰岛素水平、肝脏组织蛋白磷酸酶 2A 和磷酸化 AKT 表达的影响, 进一步探究他克莫司导致血糖升高的机制。**方法** 将 60 只雄性 SD 大鼠( $89.83 \pm 4.44$  g) 随机均分为 2 组, 他克莫司组( $n=40$ ), 每日空腹(禁食水 8 h)灌胃给药, 剂量为  $4 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ; 对照组( $n=20$ ), 每日空腹灌胃给予等量生理盐水, 每月测量大鼠体重、空腹血糖。5 个月后处死大鼠, 心脏穿刺取血, 取胰腺组织和肝脏组织, 测大鼠血清胰岛素水平, 行胰腺组织病理组织学观察, 并对肝脏行组织处理和免疫组织化学技术检测肝细胞质中蛋白磷酸酶 2A 和磷酸化 AKT 的表达。**结果** 用药 2 个月后, 他克莫司组大鼠的血糖水平明显高于对照组( $P < 0.05$ ), 他克莫司组大鼠的胰岛素分泌指数、胰岛素敏感指数均明显低于对照组( $P < 0.05$ ); 胰岛素抵抗指数明显增高( $P < 0.05$ )。他克莫司组大鼠与对照组相比, 其肝细胞质内 PP2A 表达明显增加, 磷酸化的 AKT 表达明显减少。**结论** 他克莫司导致胰岛细胞坏死, 胰岛细胞数量减少, 胰岛素的分泌降低、胰岛素敏感性下降、胰岛素抵抗增加, 从而导致大鼠血糖升高。他克莫司增加大鼠肝脏组织 PP2A 的表达, 减少肝脏组织磷酸化的 AKT 的表达, 可能通过 PI3K/AKT 信号转导途径参与胰岛细胞凋亡和胰岛素抵抗, 引起血糖的升高。

**【关键词】** 移植后糖尿病; 大鼠; 他克莫司; 磷酸化-AKT; 蛋白磷酸酶 2A

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016)03-0262-06

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2016.03.009

## Effects of tacrolimus on the expression of protein phosphatase 2A and P-AKT in rat hepatocytes

NIU Yu-jian<sup>1</sup>, WANG De-en<sup>2</sup>, YANG Liu<sup>2</sup>, CHEN Xin-guo<sup>1</sup>, WANG Hong-yu<sup>2</sup>, XU Chun<sup>2\*</sup>

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

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of tacrolimus on blood glucose, insulin, expressions of protein phosphatase 2A and P-AKT in rats in order to explore the mechanism of hyperglycemic action of tacrolimus. **Methods** Sixty male SD rats (body weight  $89.83 \pm 4.44$  g) were randomly divided into tacrolimus group ( $n=40$ ) and control group ( $n=20$ ). The rats in the tacrolimus group were administrated with tacrolimus  $4 \text{ mg}/\text{kg}$  daily. The rats in the control group were given the same amount of normal drinking water daily. The rat body weight, fasting blood glucose concentration and blood concentration of tacrolimus were measured monthly. All rats were killed at 5 months after the tacrolimus administration. The serum insulin levels were detected by radioimmunoassay method. The expressions of PP2A and P-AKT in liver tissues were assessed by immunohistochemistry. **Results** After two months of administration, the blood glucose levels in the tacrolimus group were significantly higher than those in the control group. The HOMA-IR in tacrolimus group was signif-

**【基金项目】** 武警总医院科研项目(编号: WZ20130104)。

**【作者简介】** 牛玉坚(1966-), 男, 主任医师, 专业: 器官移植。Email: niuyujian@aliyun.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: wjxuchun@sina.com

icantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). ISI was significantly lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemical examination showed that the expression of PP2A in hepatocytes in the tacrolimus group was increased compared with the control group, while expression of P-AKT in hepatocytes of the tacrolimus group was decreased than that in the control group. **Conclusions** Tacrolimus can induce necrosis of islet cells, decrease of the amount of islet cells and insulin secretion, decrease of sensitivity to insulin, and increase the resistance to insulin, therefore, leading to increase the blood glucose level in rats. The expression of PP2A in hepatocytes in the tacrolimus group is increased, while the expression of P-AKT is decreased. Interfering of insulin signal transduction pathways may be involved in the hyperglycemic effects of tacrolimus.

**【Key words】** Post-transplantation diabetes mellitus; Rat; Tacrolimus; P-AKT; Phosphatase 2A

Corresponding author: XU Chun, Email: wjxuchun@sina.com

随着科学技术以及医疗水平的不断改进,合理选择器官移植术后免疫抑制的治疗方案是手术成功的重要环节,其中钙调磷酸酶抑制剂(calcineurin inhibitors, CNI)的代表药物为环孢素 A(cyclosporin A, CsA)和他克莫司(Tacrolimus),它们明显减少排斥反应的发生率,提高患者的存活率。随着器官移植术后患者生存期延长和生活质量的提高,与免疫抑制药物相关的并发症,尤其是移植后糖尿病(post-transplantation diabetes mellitus, PTDM)的发生越来越多地引起了人们的重视。大量临床研究表明钙调磷酸酶抑制剂可导致移植后糖尿病的发生<sup>[1]</sup>,他克莫司比环孢素更容易导致 PTDM<sup>[2]</sup>。他克莫司引起糖代谢异常的机制十分复杂,至今尚未完全阐明。目前研究发现,他克莫司引起糖代谢异常的机制主要包括胰岛素分泌减少和胰岛素抵抗<sup>[3]</sup>,他克莫司通过诱导人类胰岛  $\beta$  细胞凋亡<sup>[4]</sup>。大量研究证实,胰岛细胞凋亡和胰岛素抵抗与 PI3K/AKT 信号传导通路密切相关,AKT 处于 PI3K/AKT 信号传导通路的中心位置。蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 是一种丝氨酸/苏氨酸 (Ser/Thr) 蛋白磷酸酶,使蛋白质 Ser/Thr 残基脱磷酸化,PP2A 使磷酸化 Akt 脱磷酸化而失去活性,因此是胰岛素信号通路的负调节因子,PP2A 的异常激活/高表达或异常低活性/低表达都将严重干扰胰岛素信号通路。钙调神经磷酸酶又称蛋白磷酸酶 2B (PP2B),是另一种类型的 Ser/Thr 磷酸酶,与 PP2A 同属于磷酸化蛋白磷酸酶,它是一类  $\text{Ca}^{2+}$ 、钙调素激活的蛋白磷酸酶。PP2B 同样也对 p-Akt 脱磷酸化,PP2B 的脱磷酸化作用可以使 p-Akt 耗竭而影响它的核转位,因此,PP2B 与 PP2A 共同影响着 Akt 磷酸化水平<sup>[5]</sup>。由此推测:钙调神经磷酸酶抑制剂(PP2B 抑制剂)他克莫司干扰了 PP2A 进而影响胰岛素信号通路包括 P-AKT 脱磷酸化,导致糖代谢的异常。本

研究试图以 PP2A 为桥梁,探讨钙调神经抑制剂他克莫司导致血糖升高的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只,体重( $89.83 \pm 4.44$ ) g。来源于军事医学科学院实验动物中心【SCXK(军) 2014-003】,组织取材于武警总医院医学实验中心进行。

### 1.2 分组

将大鼠按随机数字表法均分为两组(他克莫司组和对照组),苦味酸染色标记。他克莫司组(40 只),每日空腹(禁食、水 8 h)灌胃给药,剂量为  $4 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ;对照组(20 只),每日空腹灌胃给予等量生理盐水,两组大鼠均在用药 1 h 后再行喂食。实验过程中他克莫司组因灌胃损伤致死 5 只。

### 1.3 试剂

他克莫司胶囊、4% 多聚甲醛、二甲苯、柠檬酸修复液、石蜡、蛋白甘油、苏木素、伊红、苦味酸、10% 的水合氯醛、生理盐水、蒸馏水、乙醇、免疫组化检测盒、抗 P-AKT 抗体、抗 PP2A 抗体。血清胰岛素放免检测试剂盒。

### 1.4 数据测定

每月测量大鼠体重,断尾取血,用快速干化学法测定空腹血糖。

每月末将他克莫司组在空腹状态下处死随机处死 5 只大鼠,心脏穿刺取血 2 mL,并置于常温凝固,以 3000 r/min 速度离心 15 min 后取血清,用化学发光法测定他克莫司血药浓度。

用药 5 个月后,全部大鼠在空腹状态下处死,心脏穿刺取血 2 mL,并置于常温凝固,以 3000 r/min 速度离心 15 min 后取血清,采用放射免疫分析法测定血清胰岛素(INS)水平,用化学发光法测定他克

莫司血药浓度。

1.5 胰腺组织的病理学检查

1.5.1 制备石蜡切片

(1)将切块的胰腺组织浸渍于 4% 多聚甲醛固定液中固定;(2)流水冲洗固定好的胰腺组织;(3)梯度乙醇脱水;(4)二甲苯透明胰腺组织;(5)浸蜡;(6)包埋;(7)切片。

1.5.2 染色

(1)贴片与烤片;(2)二甲苯透明剂切片脱蜡;(3)梯度乙醇水化;(4)染色;(5)梯度乙醇切片脱水;(6)透明和封片。

1.6 肝脏组织 PP2A 和 P-AKT 的表达

1.6.1 制备肝脏组织石蜡切片

过程同胰腺组织。

1.6.2 免疫组织化学检测 PP2A 和 P-AKT 的表达

(1)贴片与烤片;(2)二甲苯透明剂切片脱蜡;(3)梯度乙醇水化;(4)蒸馏水洗 5 min;(5)抗原修复;(6)蒸馏水洗 5 min;(7)PBS 洗 3 次,每次各 5 min;(8)3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> PBS 溶液阻断内源性过氧化物酶 10 min;(9)PBS 洗 3 次,每次各 5 min;(10)将一抗滴加,并置于 37℃ 下孵育 60 min。在实验对照组中用 PBS 代替一抗,重复以上步骤;(11)PBS 洗 3 次,每次各 5 min;(12)将山羊抗兔 IgG 抗体-HRP 多聚体滴加,并置于 37℃ 下孵育 40 min;(13)PBS 洗 3 次,每次各 5 min;(14)DAB 显色液显色 3 min,显微镜下控制反应,并用自来水冲洗终止反应;(15)Harris 苏木素液复染细胞核 1 min;(16)切片脱水;(17)透明和封片;(18)镜下观察结果。

1.6.3 阳性标记的形态特征和判断

免疫组化结果分析①将每一视野下阳性细胞按照百分比(%)分 5 成级。0 分为:无阳性细胞为。1 分为:阳性细胞≤10%。2 分为:11%~50%。3 分为:51%~75%。4 分为:>75%。②将每个细胞的着色强度分为 4 级。0 分为无色。1 分为淡黄色。2

分为棕黄色。3 分为棕褐色。③标本的阳性细胞百分比积分乘以颜色的强度积分>3 分可确定为阳性。

1.7 统计学处理

利用空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)和空腹胰岛素(fasting plasma insulin, FINS),稳态模型法计算胰岛素分泌指数(homeostasis model assessment of insulin secretion, HOMA-β)值、胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI)和胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, HOMA-IR)。ln 为自然对数,胰岛素单位为 mU/L (1 mU/L = 25 ng/mL),血糖单位为 mmol/L。HOMA-β = 20 × FINS/(FBG-3.5);ISI = ln (1/FBG × FINS);HOMA-IR: FBG × FINS/22.5。数据均采用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,使用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计整合分析。(1)两组大鼠的体重、血糖以及胰岛素分泌指数、胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数的比较采用独立样本 T 检验, $P < 0.05$  为差异有显著性, $P < 0.01$  为差异有显著性;(2)两组大鼠 P-AKT 表达强度结果比较采用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有显著性, $P < 0.01$  为差异有显著性统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠体重的比较

他克莫司组与对照组大鼠的体重均呈持续增长,在第 1、2 月时,两组大鼠体重差异无显著性( $P > 0.05$ ),第 3、4、5 个月时,他克莫司组大鼠的体重明显低于对照组,且两者的差异有显著性( $P < 0.05$ ),见表 1。

2.2 两组大鼠血糖水平的比较

大鼠于空腹状态行尾静脉穿刺取血测定血糖水平。在用药后第 3 个月末,他克莫司组大鼠血糖水平>7.0 mmol/L,成功诱导出糖尿病。

表 1 用药期间每月末两组大鼠体重的比较/g

| Tab. 1 Comparison of body weights between the two groups |                                             |                                             |                                             |                                             |                                             |
|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 组别<br>Groups                                             | 1 月末<br>The end of<br>1 <sup>st</sup> month | 2 月末<br>The end of<br>2 <sup>nd</sup> month | 3 月末<br>The end of<br>3 <sup>rd</sup> month | 4 月末<br>The end of<br>4 <sup>th</sup> month | 5 月末<br>The end of<br>5 <sup>th</sup> month |
| 他克莫司组<br>Tacrolimus group                                | 134. 47 ± 5. 68                             | 185. 64 ± 14. 37                            | 250. 13 ± 18. 72 *                          | 258. 63 ± 23. 86 *                          | 278. 36 ± 22. 81 *                          |
| 对照组<br>Control group                                     | 127. 35 ± 6. 42                             | 178. 65 ± 18. 95                            | 262. 64 ± 27. 89                            | 291. 13 ± 14. 38                            | 311. 77 ± 14. 02                            |

注: \* 与对照组相比, $P < 0.05$ 。  
Note. \* vs. the control group,  $P < 0.05$ .

他克莫司组大鼠血糖水平呈现明显上升趋势。在用药第 1、2 个月,他克莫司组与对照组两组的空腹血糖水平无显著差异( $P > 0.05$ );第 3、4、5 月时,

他克莫司组大鼠的空腹血糖水平明显高于对照组,且差异有显著性( $P < 0.05$ )(见表 2)。

表 2 用药期间每月末两组大鼠血糖的比较(单位:mmol/L)

Tab.2 Comparison of blood glucose levels between the two groups

| 组别<br>Groups              | 1 月末<br>End of the<br>1 <sup>st</sup> month | 2 月末<br>End of the<br>2 <sup>nd</sup> month | 3 月末<br>End of the<br>3 <sup>rd</sup> month | 4 月末<br>End of the<br>4 <sup>th</sup> month | 5 月末<br>End of the<br>5 <sup>th</sup> month |
|---------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 他克莫司组<br>Tacrolimus group | 4.61 ± 0.29                                 | 5.46 ± 0.29                                 | 8.13 ± 0.67 *                               | 8.37 ± 0.78 *                               | 8.96 ± 0.80 *                               |
| 对照组<br>Control group      | 4.53 ± 0.56                                 | 5.20 ± 0.47                                 | 4.76 ± 0.27                                 | 4.99 ± 0.29                                 | 5.25 ± 0.31                                 |

注: \* 与对照组相比, $P < 0.05$ 。  
Note. \* vs control group,  $P < 0.05$ .

2.3 大鼠他克莫司血药浓度的测定

每月测定他克莫司组大鼠他克莫司的血药浓度,浓度值维持在(8.59 ± 0.59) ng/mL。

2.4 两组大鼠胰岛素分泌指数、胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数的比较

用药 5 个月后,于空腹状态下处死全部大鼠,采用放射免疫分析法测定 INS 水平,结合空腹血糖分别计算两组大鼠的胰岛素分泌指数、胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数。利用 SPSS 软件分析示:他克莫司组大鼠的胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数均明显低于对照组,且差有显著性( $P < 0.01$ ),胰岛素分泌指数也低于对照组,差异有显著性( $P < 0.05$ )(见表 3)。

表 3 两组大鼠胰岛素敏感指数、分泌指数和抵抗指数的比较

Tab.3 Comparison of HOMA-IR, HOMA-β and ISI of the two groups

| 组别<br>Groups              | 抵抗指数<br>HOMA-IR * | 分泌指数<br>HOMA-β <sup>#</sup> | 敏感指数<br>ISI * |
|---------------------------|-------------------|-----------------------------|---------------|
| 他克莫司组<br>Tacrolimus group | 4.59              | 46.16                       | 0.22          |
| 对照组<br>Control group      | 3.37              | 164.69                      | 1.00          |

注: \* 与对照组相比,  $P < 0.01$ ,<sup>#</sup>与对照组相比, $P < 0.05$ 。  
Note. \* vs. the control group,  $P < 0.01$ ,<sup>#</sup>vs. the control group,  $P < 0.05$ .

2.5 大鼠胰腺病理学改变

用 40 倍光学显微镜观察两组大鼠胰腺病理切片:对照组大鼠胰腺导管清楚可见,腺泡细胞罗列整齐,细胞基底可见明显的等大的细胞核,核仁清晰,胰岛细胞染色较浅,染色均匀(见图 1);他克莫司组大鼠胰腺导管不清,腺泡细胞罗列整齐,胰岛细胞数量显著减少,细胞胞质内存在多数不等的空泡,细胞核染色欠匀称,部分细胞胞核消失,可见坏死细胞

(见图 2)。

2.6 大鼠肝脏 PP2A 和 P-AKT 表达水平

他克莫司组大鼠肝脏标本中 PP2A C 阳性率为 80%,对照组 PP2A C 阳性率为 10%, $\chi^2 = 17.0707$  ( $P < 0.005$ ),两组差异有显著性(图 3,4)。他克莫司组 P-AKT 的阳性率为 10%,对照组为 100%, $\chi^2 = 32.727$ , $P < 0.001$ ,差异有显著性(图 5,6)。

3 讨论

本研究将他克莫司组的大鼠血液药物浓度控制在 6 ~ 10 μg/L 之间,这是目前临床维持免疫抑制作用最有效药物浓度,我们观察到他克莫司组大鼠空腹血糖水平上升,HOMA-IR 上升,ISI 下降,提示长期服用他克莫司可以引起血糖升高,胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗同时存在于他克莫司引起的糖尿病模型中。这与我们以往的研究结果相同<sup>[6,7]</sup>。关于他克莫司引起胰岛素分泌不足的机制已有很多研究,一致的观点是:他克莫司对胰岛 β 细胞具有直接损害,使胰岛 β 细胞发生凋亡、胞质空泡形成和坏死。他克莫司在转录水平抑制胰岛素的合成,在转录后水平抑制胰岛素释放。他克莫司导致胰岛素抵抗的机制尚不清楚。导致机体发 IR 的原因有:肥胖、炎症反应、氧化应激、线粒体功能障碍、微量元素缺乏、丙型肝炎等。高脂饮食喂养的胰岛素抵抗大鼠,其内脏脂肪细胞的 PP2A 的表达明显增加,P-AKT 和 IRS-1 明显的减少<sup>[8]</sup>。众多的研究发现在上述引起胰岛素抵抗的情况下,均有 PP2A 的参与<sup>[9-12]</sup>。本研究提示他克莫司引起肝脏组织中 PP2A C 表达水平的增加,说明 PP2A 在 PP2B 抑制剂(钙调磷酸酶抑制剂)导致的糖代谢紊乱的过程中起一定的作用。

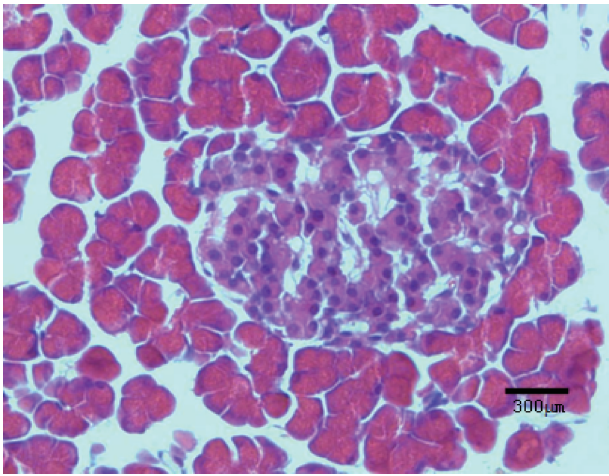


图 1 对照组大鼠胰腺的组织学形态(HE 染色)

**Fig. 1** Histology of the pancreas of a control rat. HE staining

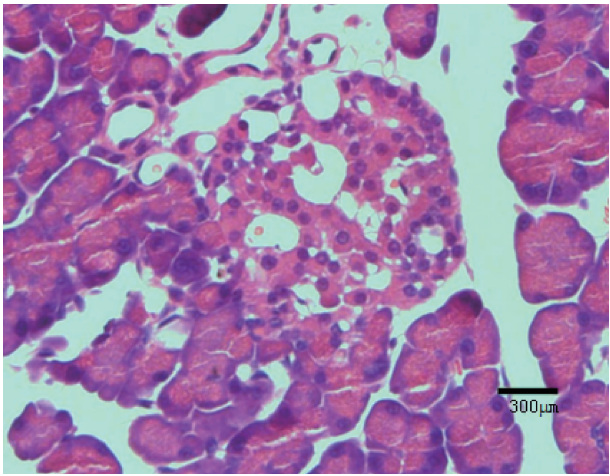


图 2 他克莫司组大鼠胰腺的病理学改变(HE 染色)

**Fig. 2** Pathological changes of the pancreas in a tacrolimus-treated rat (HE staining)

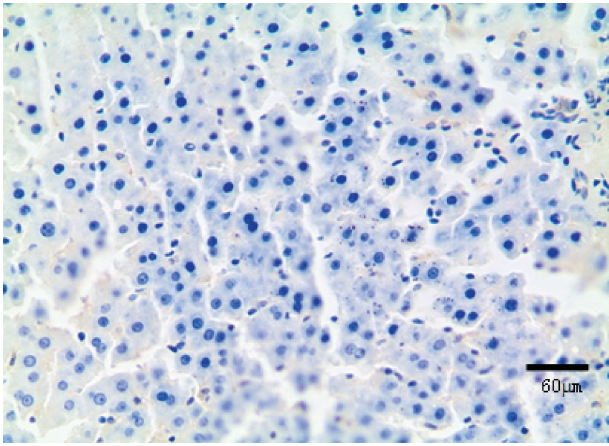


图 3 对照组大鼠肝脏组织 PP2A 的表达(SP 免疫组化染色)

**Fig. 3** Expression of PP2A in a control rat liver tissue.

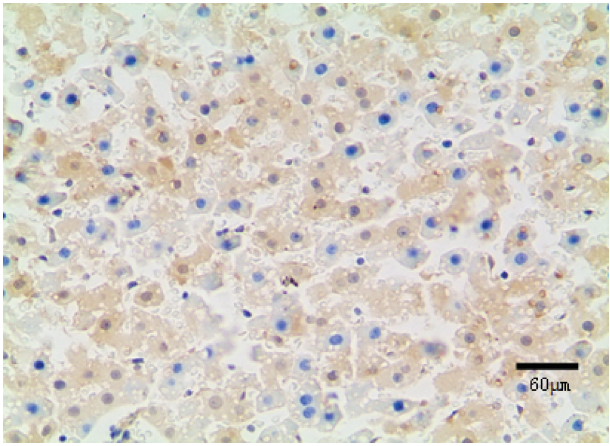


图 4 对照组大鼠肝脏组织 PP2A 的表达(SP 免疫组化染色)

**Fig. 4** Expression of PP2A in a control rat liver tissue. Immunohistochemical SP staining.

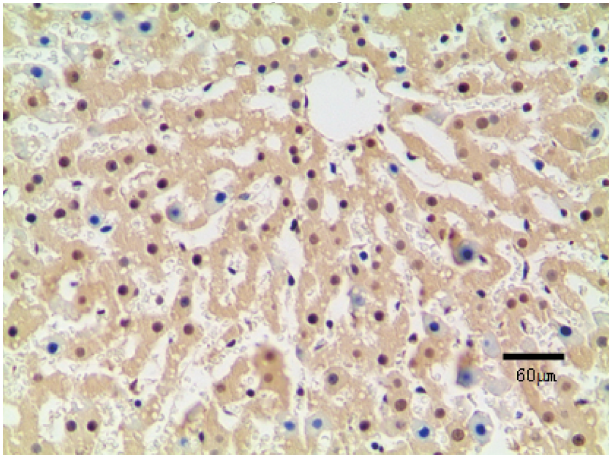


图 5 对照组大鼠肝脏组织 P-AKT 的表达(SP 免疫组化染色)

**Fig. 5** Expression of P-AKT in a control rat liver tissue. Immunohistochemical SP staining.

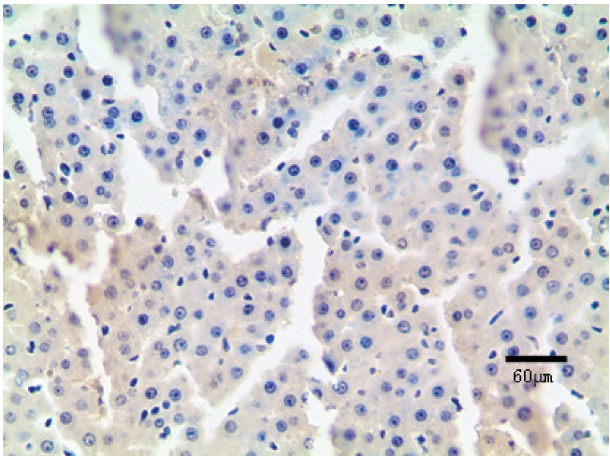


图 6 他克莫司组大鼠肝脏组织 P-AKT 的表达(SP 免疫组化染色)

**Fig. 6** Expression of P-AKT in a tacrolimus-treated rat liver tissue. Immunohistochemical SP staining.

PI3K/AKT 信号转导通路是脂肪、肝脏、骨骼肌等胰岛素靶组织维持正常糖代谢的重要调节通路,丝/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, AKT)与 IR 的发生发展密切相关<sup>[13]</sup>,且在胰岛  $\beta$  细胞的生存和复制过程中至关重要<sup>[14]</sup>。研究证实,AKT 通过多种方式来发挥调控血糖的作用。(1)与胰岛  $\beta$  细胞凋亡的关系。PI3K/AKT 信号转导通路作为胰岛素的主要下游分子通路,它具有抗凋亡和促凋亡的双重调节作用,其中以抗细胞凋亡作用为主<sup>[15]</sup>。(2)与胰岛素抵抗的关系。在 IR 状态时,胰岛素刺激对 PI3K/AKT 信号传导通路的作用明显下调<sup>[16]</sup>。Joanne 等研究敲除 AKT2 基因的小鼠,发现其肝脏和骨骼肌等胰岛素靶器官对胰岛素的反应较正常小鼠存在不同程度的减弱,提示了 AKT2 是正常糖代谢平衡所必需的基因<sup>[17]</sup>。(3)与胰岛素分泌的关系。对剔除胰岛素受体的大鼠给予葡萄糖刺激,发现大鼠无法做出有效应答,随着大鼠的年龄增长,胰岛体积、 $\beta$  细胞数量和胰岛素分泌水平同时降低。由此可见,AKT 在调节血糖水平的过程中至关重要。本研究发现他克莫司组大鼠肝脏组织磷酸化 AKT 表达明显受到抑制。试验推断,他克莫司可能是通过促进 PP2A 的表达,使 AKT 去磷酸化失活,从而阻断胰岛素信号通路(PI3K/AKT 信号传导通路),导致高血糖的发生。

他克莫司导致胰岛细胞坏死、空泡样变,减少胰岛素的分泌、降低胰岛素敏感性、增加胰岛素抵抗,导致大鼠血糖升高。他克莫司导致大鼠肝脏 PP2A 的表达,使 AKT 去磷酸化而失活,阻断 PI3K/AKT 信号的转导,导致胰岛细胞凋亡和胰岛素抵抗的发生。

### 参 考 文 献

- [1] Mazali FC, Lalli CA, Alves Filho G, et al. Posttransplant diabetes mellitus: incidence and risk factors [J]. *Transplant Proc*, 2008, 40(3): 764–766.
- [2] Shah T, Kasravi A, Huang E, et al. Risk factors for development of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation [J]. *Transplantation*, 2006, 82(12): 1673–1676.
- [3] Meier M, Nitschke M, Weidtmann B, et al. Slowing the progression of chronic allograft nephropathy by conversion from cyclosporine to tacrolimus: a randomized controlled trial [J]. *Transplantation*, 2006, 81(7): 1035–1040.
- [4] Soleimanpour S, Crutchlow MF, Ferrari AM, et al. Calcineurin signaling regulates human islet  $\beta$ -cell survival [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(51): 40050–40059.
- [5] Mistafa O, Aram G, Sandeep K, et al. Purinergic receptor-mediated rapid depletion of nuclear phosphorylated Akt depends on pleckstrin homology domain leucine-rich repeat phosphatase, calcineurin, protein phosphatase 2A, and PTEN phosphatases [J]. *Biol Chem*, 2010, 285: 27900–27910.
- [6] 滕雅芹, 牛玉坚, 徐春, 等. 他克莫司对大鼠血糖的影响及其机制的探讨 [J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(2): 74–77.
- [7] 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 [J]. *Clin Lab*, 2013, 59: 869–873.
- [8] Hye-seung J, Hwang K. High-fat diet alters PP2A, TC10, and CIP4 expression in visceral adipose tissue of rats [J]. *Obesity*, 2008, 16(6): 1226–1231.
- [9] Cohen PT, Philp A, Vázquez-Martin C. Protein phosphatase 4 — from obscurity to vital functions [J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(15): 3278–3286.
- [10] Yan L, Guo S, Brault M, et al. The B55 $\alpha$ -containing PP2A holoenzyme dephosphorylates FOXO1 in islet  $\beta$ -cells under oxidative stress [J]. *J Biochem*, 2012, 444(2): 239–247.
- [11] Galbo T, Olsen GS, Quistorff B, et al. Free fatty acid-induced PP2A hyperactivity selectively impairs hepatic insulin action on glucose metabolism [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27424.
- [12] Ziegler E, Filer LJ (Editors). *Present Knowledge in Nutrition 7<sup>th</sup> Edition* [M]. International Life Science Institute Foundation, 1996, 11(2): 282–282.
- [13] Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway [J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1655–1657.
- [14] Lingohr MK, Buettner R, Rhodes CJ. Pancreatic beta-cell growth and survival — a role in obesity-linked type 2 diabetes [J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8(8): 375–384.
- [15] Dudek H, Datta SR, Franke TF, et al. Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase AKT [J]. *Science*, 1997, 275(5300): 661–665.
- [16] Cusi K, Maezono K, Oaman A, et al. Insulin resistance differentially affects the PI3-kinase-and MAP kinase-mediated signaling in human muscle [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(3): 311–320.
- [17] Cho H, Mu J, Kim JK, et al. Insulin resistance and a diabetes mellitus like syndrome in mice lacking the protein kinase AKT2 (PKB  $\beta$ ) [J]. *Science*, 2001, 292(5522): 1728–1731.

[收稿日期] 2016-01-06