

杜国慧, 刘博伟, 尹福在, 等. 利拉鲁肽对糖尿病小鼠肝糖异生关键酶 PEPCK 及 G6pase 的表达影响及机制探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(12): 98-102.

Du GH, Liu BW, Ying FZ, et al. Mechanistic analysis of liraglutide effects on the expression levels of PEPCK and G6pase in the diabetic mouse liver [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(12): 98-102.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.12.015

利拉鲁肽对糖尿病小鼠肝糖异生关键酶 PEPCK 及 G6pase 的表达影响及机制探讨

杜国慧¹, 刘博伟^{1,2*}, 尹福在², 齐曦明³, 范冬梅²

(1.承德医学院, 河北 承德 067000; 2.河北省秦皇岛市第一医院内分泌二科, 河北 秦皇岛 066000;
3.河北省秦皇岛市第一医院中心实验室, 河北 秦皇岛 066000)

【摘要】 目的 观察利拉鲁肽对糖尿病小鼠肝糖异生关键酶葡萄糖-6-磷酸(G-6-Pase)及磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPCK)的表达影响及机制探讨。**方法** 动物实验设计分3组:正常对照组(雄性C57小鼠, $n=5$),腹腔注射生理盐水;模型对照组(雄性KK-Ay糖尿病小鼠, $n=5$),腹腔注射生理盐水;利拉鲁肽干预组(雄性KK-Ay糖尿病+药物干预小鼠, $n=5$),腹腔注射利拉鲁肽。3组小鼠均在相同的饲养环境下饲养。干预8周,检测小鼠的血糖,采用Western blot方法检测FOXO1,隐花色素1(cryptochrome 1, CRY1),E3泛素蛋白酶DDB1,糖异生关键酶葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-Pase)及磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPCK)的表达情况。**结果** 与模型对照组相比,利拉鲁肽干预组血糖显著下降;利拉鲁肽干预后糖尿病小鼠肝DDB1,FOXO1,G6Pase与PEPCK的表达减少,而隐花色素1(cryptochrome 1, CRY1)的表达增加。**结论** 利拉鲁肽可以下调糖尿病小鼠肝糖异生关键酶G6Pase及PEPCK的表达,其作用可能与下调E3泛素蛋白酶DDB1有关。

【关键词】 利拉鲁肽;E3泛素蛋白酶DDB1;FOXO1;葡萄糖-6-磷酸酶;磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020)12-0098-05

Mechanistic analysis of liraglutide effects on the expression levels of PEPCK and G6pase in the diabetic mouse liver

DU Guohui¹, LIU Bowei^{1,2*}, YING Fuzai², QI Ximing³, FAN Dongmei²

(1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China. 2. Second Department of Endocrinology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000. 3. First Hospital Central Laboratory of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000)

【Abstract】 Objective To observe the effect of liraglutide on the expression of glucose-6-phosphatase (G6pase) and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCK) in the diabetic mouse liver and explore the underlying mechanisms of these effects. **Methods** Mice were divided into three groups: the normal control group (male C57 mice, $n=5$) received intraperitoneal injection of normal saline, the model control group (male KK-Ay mice, $n=5$) received intraperitoneal injection of normal saline, and the Liraglutide group (male KK-Ay mice+ drug intervention, $n=5$) received intraperitoneal injection of liraglutide. All three groups of mice were raised in the same feeding environment. After 8 weeks of intervention,

[作者简介] 杜国慧(1987—),女,硕士,住院医师,研究方向:内分泌代谢性疾病。E-mail:duguohui2018@163.com

[通信作者] 刘博伟(1974—),女,硕士,主任医师,研究方向:内分泌代谢性疾病。E-mail:liubo_wei@126.com

the blood glucose of mice was detected; the expression levels of the FOXO1, cryptochrome 1, the E3 ubiquitin ligase DDB1, G6pase, and PEPCK in the liver were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model control group, blood glucose was significantly reduced in the intervention group. The expression levels of DDB1, FOXO1, G6Pase and PEPCK decreased in the intervention group, while the expression level of Cryptochrome 1 (CRY1) increased. **Conclusions** Liraglutide can downregulate the expression of G6Pase and PEPCK, key gluconeogenesis enzymes, in the diabetic mouse liver; this may be related to downregulation of the E3 ubiquitin ligase DDB1.

[Keywords] Liraglutide; E3 ubiquitin ligase DDB1; FOXO1; glucose-6-phosphatase (G-6-Pase); phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCK).

糖尿病作为慢性代谢性疾病,随其发病率的飙升^[1],已越来越受人们的关注,其发病病理生理机制主要表现在胰岛素的缺乏和胰岛素抵抗两个方面。其中肝的胰岛素抵抗与2型糖尿病的发生发展息息相关,肝糖代谢的紊乱主要通过肝糖原合成及糖异生来影响葡萄糖代谢。CUL4a—DDB1 连接酶复合物是一类 E3 泛素连接酶复合物,可以通过对底物进行泛素化修饰,从而改变蛋白功能或促进被修饰蛋白的降解,DNA 损伤结合蛋白 1 (DDB1) 是 DDB1—cul4a 连接酶复合物的支架组分^[2-4]。

本课题旨在探讨 GLP-1 受体激动剂利拉鲁肽对糖尿病小鼠肝 E3 泛素蛋白酶 DDB1 及肝糖异生的影响及可能的机制,为 GLP-1 受体激动剂在 T2DM 等代谢性疾病治疗中的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级,雄性 KK-Ay 糖尿病小鼠 10 只,11~12 周,体重为 33~35 g; SPF 级,雄性 C57 小鼠 5 只 11~12 周,体重为 26~28 g,均购自北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2019-0008],实验在天津南开大学医学部免疫实验组[SYXK(津)2017-00005]进行。实验经天津南开大学伦理管理委员会审核(201907-001),对实验小鼠在实验过程中的所有处置均按国家《实验动物管理条例》的规定执行,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

利拉鲁肽注射液购自诺和诺德制药有限公司; RIPA 裂解液、PMSF、SDS-PAGE 制胶盒、TBS (20X)、TRIS Base、Glycine、SDS(十二烷基磺酸钠)、Tween20、脱脂奶粉(Skim Milk)均购自索莱宝科技(Solarbio); BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自中国 Beyotime Biotechnology 公司; ECL 显影液、PVDF 膜购自美国 Millipore 公司; Anti-mouse IgG-HRP antibody、Anti-Rabbit IgG-HRP antibody 购自北京中

杉金桥生物技术有限公司; Anti-IgG-DDB1 antibody 购自 Abcam; Anti-IgG-G6pase antibody、Anti-IgG-PEPCK antibody 购自博奥森(Bioss); Anti-Cryptochrome 1/CRY1 Antibody、Anti-FoxO1a Rabbit Monoclonal Antibody 购自博士德; SDS-Loading Buffer (5×) 购自北京康润科技(Genstar); 葡萄糖氧化酶试剂盒购自上海荣盛。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

取 11~12 周雄性 KK-Ay 糖尿病小鼠 10 只,单笼饲养于屏障环境,温度:20℃~22℃,湿度:45%~55%,光照:12 h/12 h 明暗循环,所有小鼠均予以常规饮食。小鼠适应环境 1 周后测量体重(35.04±0.92)g,血糖>13.9 mmol/L 的 KK-Ay 小鼠随机分为 2 组,即利拉鲁肽干预组和模型对照组,每组 5 只。另取同周龄体重(28.02±2.04)的雄性 C57 小鼠 5 只作为正常对照,利拉鲁肽干预组每日腹腔注射 250 μg/kg 利拉鲁肽,模型对照组和正常对照组每日腹腔注射等量生理盐水,给药时间每日 16:00~17:00,连续干预 8 周。

1.3.2 动物处理与取样

在处死小鼠前,禁食 12 h,对小鼠进行眼眶取血;取出眼眶血放于 EP 管中,然后将 EP 管置于 37℃ 水浴锅孵育 30 min; 3000 r/min 离心 10 min; 取上清液(即血清)转移到对应标记新的 1.5 mL 离心管中;采用葡萄糖氧化酶法测定血糖。同时处死小鼠剖腹取小鼠肝组织分装置于-80℃ 冰箱保存备用。

1.3.3 Western blot 检测

取 0.2 g 肝组织,加入提前配好的 RIPA 裂解液 800 μL (RIPA 裂解液+蛋白酶抑制剂 2%+磷酸酶抑制剂 1%+PMSF 1%),超声波裂解肝组织,冰上静置 30 min, 12000 r/min 离心 30 min, 取上清。应用 BCA 法创建蛋白定量标准曲线,依据定量,计算各肝标本中的总蛋白和蛋白浓度。应用 10% SDS-PAGE 分离胶对蛋白电泳分离约 1.0~1.5 h,在

冰浴条件下转膜(湿转)约 120 min。用 5%脱脂奶粉溶液室温下封闭 2 h。一抗(依据抗体说明书及摸索的具体情况确定稀释比例,用 1×TBST 稀释)4℃条件下摇床孵育过夜。第 2 天将 PVDF 膜用 1×TBST 洗涤 5 次,每次 6 min,二抗(依据说明书要求的稀释比例,应用 1×TBST 稀释)室温孵育 2 h,洗涤后在多功能成像仪暗室中曝光、成像、记录图像。

1.4 统计学方法

用 Image J 软件测定每个目标条带的灰度值,使用 Graphpad 5.0 进行统计学分析和作图。实验数据用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对随机血糖的影响

三组小鼠血糖值差异具有统计学意义,模型对照组血糖值(30.84±1.29)mmol/L 较正常对照组血糖值(8.88±0.47)mmol/L 明显升高,差异有统计学意义(*P*<0.01);利拉鲁肽干预组血糖值(23.74±2.74)mmol/L 较模型对照组明显下降,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。

2.2 对肝组织 E3 泛素蛋白酶 DDB1 表达的影响

Western blot 结果显示糖尿病小鼠肝内 E3 泛素蛋白酶 DDB1 蛋白水平明显高于正常对照组(*P*<0.05),经利拉鲁肽干预处理后,糖尿病小鼠肝内 DDB1、CRY1 的表达均低于糖尿病对照组(*P*<0.05),见图 1、表 1。

2.3 对小鼠肝组织 CRY1、FOXO1, 及糖异生关键酶 PEPCK、G6pase 表达的影响

Western blot 结果显示糖尿病小鼠肝内 FOXO1、PEPCK 及 G6pase 蛋白水平明显高于正常对照组(*P*<0.05),经利拉鲁肽干预后,糖尿病小鼠肝内 FOXO1、PEPCK 及 G6pase 的表达均明显低于模型对照组(*P*<0.05),见图 2、表 2。糖尿病小鼠内 CRY1 蛋白表达水平明显低于正常对照组(*P*<

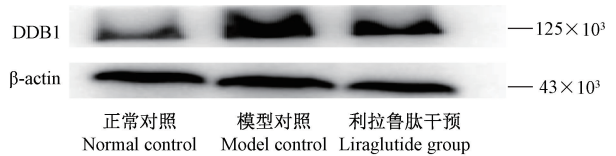


图 1 利拉鲁肽对糖尿病小鼠肝 E3 泛素蛋白酶 DDB1 蛋白表达水平的比较

Figure 1 Comparison of the expression level of E3 ubiquitin protease DDB1 in liver of diabetic mice with Liraglutide

0.05),利拉鲁肽干预处理后,表达量却明显上调(*P*<0.05),见图 2、表 2。

3 讨论

胰高血糖素样肽-1 (glucagon like peptide-1, GLP-1) 主要由末端空肠、回肠和结肠中的 L 细胞受到食物刺激后分泌^[5],是一种肠内分泌源性肽,通过刺激胰岛素分泌、抑制胰高血糖素释放、促进 β 细胞增殖、减少食物摄入等途径,起到抑制糖尿病的作用^[6],现已广泛应用于临床,主要用于改善 2 型糖尿病患者的胰岛素敏感性。各项临床研究及 meta 分析都指出:GLP-1 及其类似物能够显著降低 2 型糖尿病患者的血糖及体重,改善胰岛素的敏感性,可以改善心衰大鼠左心室的收缩和舒张功能减轻心肌细胞的损伤,且独立于降糖机制^[7]。其中利拉鲁肽(liraglutide)属于长效的 GLP-1 类似物,与人体天然的 GLP-1 氨基酸序列具有 97% 的同源性,于 2010 年由美国 FDA 批准用于临床,而目前主要用于改善成人 2 型糖尿病患者的血糖控制^[8],本次实验结果提示模型对照组较正常对照组血糖明显升高,而利拉鲁肽干预后,血糖明显下降,并具有统计学意义。

表 1 5 组小鼠肝组织 E3 泛素蛋白酶 DDB1 蛋白表达水平的比较

Table 1 Comparison of the expression level of E3 ubiquitin protease DDB1 in liver tissues of five groups	
组别 Groups	DDB1
正常对照 (n=5) Normol control	1.052±0.228
模型对照 (n=5) Model control	1.712±0.109 **
利拉鲁肽干预 (n=5) Liraglutide group	0.950±0.110

注:与正常对照组比较,**P*<0.05;与模型对照组比较,***P*<0.05。
Note. Compared with the normal control group, **P*<0.05. Compared with model control group, ***P*<0.05.

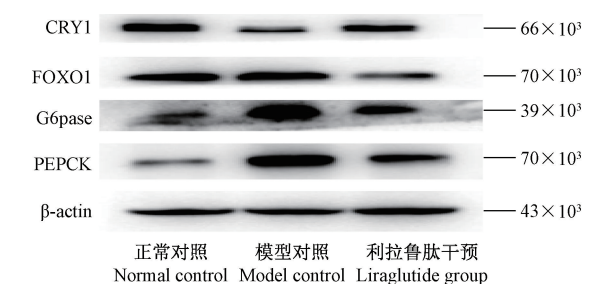


图 2 利拉鲁肽对小鼠肝 CRY1、FOXO1 及 PEPCK、G6pase 蛋白表达水平的影响

Figure 2 Effect of Lilarutin on CRY1、FOXO1 and PEPCK、G6pase expression in mouse liver

表 2 5 组小鼠肝组织 CRY1、FOXO1、G6pase、PEPCK 蛋白表达水平的比较

组别 Groups	CRY1	FOXO1	G6pase	PEPCK
正常对照 (n=5) Normol control	2. 091±0. 274	0. 672±0. 126	0. 811±0. 094	0. 883±0. 128
模型对照 (n=5) Model control	0. 793±0. 180 * #	1. 838±0. 385 * #	2. 151±0. 267 * #	2. 909±0. 605 * #
利拉鲁肽干预 (n=5) Liraglutide group	2. 132±0. 489	0. 742±0. 129	0. 838±0. 068	1. 284±0. 178

注:与正常对照组比较,**P*<0. 05;与利拉鲁肽干预组比较,#*P*<0. 05。
Note. Compared with the normal control, **P*<0. 05.Compared with model control group, #*P*<0. 05.

泛素-蛋白酶体途径(UPS)是存在于真核细胞中精确调控细胞质和细胞核内蛋白质有序降解的途径,由泛素(Ub)、泛素激活酶(E1)、泛素结合酶(E2)、泛素连接酶(E3)、26S 蛋白酶体和去泛素化酶(DUBs)组成^[9]。越来越多的研究证据表明 E3 泛素蛋白酶通过调节胰岛素信号传导中的关键分子在胰岛素抵抗的发展中起着关键作用^[10];MG53 的过度表达可以触发肌肉胰岛素抵抗和代谢综合征^[11-12];膜相关环-CH-1(MARCH1)可以通过泛素化负调节胰岛素受体的细胞表面水平^[13];也有报道称脂肪组织 E3 泛素蛋白酶 Pellino3 对胰岛素抵抗却表现出保护作用^[14]。Xin 等人的研究表明,E3 泛素蛋白连接酶 DDB1 可能是一种新型的糖原异生监管因素,它主要通过介导 CRY1 蛋白的降解,进而推动 FOXO1 介导的糖异生作用,同时也证实肝细胞 DDB1 缺乏不仅抑制空腹时糖原异生,并且可以保护小鼠免受禁食高脂肪饮食引起的高血糖^[15-16]。本研究结果显示利拉鲁肽在肝内可作用于 E3 泛素蛋白酶 DDB1,并下调它的表达,提示 GLP-1 及其类似物在肝内可能通过下调 E3 泛素蛋白酶,进而发挥抑制肝糖异生的作用,而其中的具体作用机制尚有待进一步实验研究。

肝是糖脂代谢的重要器官,在糖尿病的发生发展中起着至关重要的作用^[17]。在糖尿病患者中,肝糖异生增加导致大量内源性葡萄糖产生,特别是增加了空腹高血糖的发生^[18],其中糖异生限速酶葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-Pase)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPCK)编码基因的多少是决定糖异生启动的关键环节^[19],故通过干预肝糖异生,减少肝葡萄糖生成,将为改善肝胰岛素抵抗提供一个广阔前景。而肝糖异生还受很多转录因子的调控,包括叉头盒转录因子 O1(FoxO1)、CREB、PGC-1α 等等,其中 FOXO1 被证实是肝用来监测脂质和葡萄糖代谢与循环胰岛素水平的传感器,是肝糖异生关键酶调控

的上游靶点,主要促进空腹时肝糖异生,增加肝糖输出^[20-21]。Fan 等人^[22]发现 exendin-4 可增加幼鼠肝 AKT 和 FOXO1 磷酸化,抑制葡萄糖-6-磷酸酶(G6pase)和磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PEPCK)的表达。在本次研究中同样证实利拉鲁肽下调了肝糖异生关键酶 PEPCK 及 G6pase 的表达,糖异生的上游靶点 FOXO1 的表达也同样被下调,推测利拉鲁肽抑制肝糖异生可能与部分下调 E3 泛素蛋白酶进而抑制 FOXO1 有关,而其中的具体机制需要进一步去验证。

隐花色素 1(cryptochrome 1,CRY1)表达蛋白是生物钟的组成部分,经体液和神经途径送达效应器,调节生理、生化和节律行为,肝糖异生也受昼夜节律的调控,昼夜节律是协调葡萄糖代谢与外部环境变化,研究发现 CRY1 可以通过作用于糖皮质激素受体和胰高血糖素信号通路负调控 FOXO1 的表达,抑制肝糖异生^[23-25],Stojkovic 等^[26]人提出泛素化是一个时钟蛋白修饰编码的关键因素,本研究发

现肝中 CRY1 的表达与 DDB1 呈负相关,这与之前研究结果是相符的,故推测 CRY1 在肝可能是通过泛素蛋白的泛素化来降解的,进而抑制肝糖异生,但其中的具体机制仍需要进一步研究证实。

总之,利拉鲁肽降低糖尿病小鼠糖异生关键酶 PEPCK 及 G6pase 的表达,抑制了肝的糖异生,有效控制糖尿病小鼠血糖。同时利拉鲁肽可显著下调糖尿病小鼠肝内 E3 泛素蛋白酶 DDB1 的表达水平,揭示了利拉鲁肽调节肝糖异生可能存在的一种新的通路,这同时也揭示了 E3 泛素蛋白酶可能成为一种新的肝糖异生的负调控因子,有望成为治疗 2 型糖尿病的新的靶点。

参考文献:

[1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1): 4-67.
[2] Angers S, Li T, Yi X, et al. Molecular architecture and assembly

- of the DDB1 - CUL4A ubiquitin ligase machinery [J]. *Nature*, 2006, 443(7111): 590-593.
- [3] He YJ, McCall CM, Hu J, et al. DDB1 functions as a linker to recruit receptor WD40 proteins to CUL4-ROC1 ubiquitin ligase s [J]. *Genes Dev*, 2006, 20(21): 2949-2954.
- [4] Iovine B, Iannella ML, Bevilacqua MA. Damage-specific DNA binding protein 1 (DDB1): a protein with a wide range of functions [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(12): 1664-1667.
- [5] Gastaldelli A, Gaggini M, DeFronzo R. Glucose kinetics: an update and novel insights into its regulation by glucagon and GLP-1 [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2017, 20(4): 300-309.
- [6] Wu F, Yang L, Hang K, et al. Full-length human GLP-1 receptor structure without orthosteric ligands [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1272.
- [7] 王晨阳, 曹海涛, 张志华, 等. 利拉鲁肽对大鼠压力负荷型慢性心衰的保护作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(9): 64-68.
- [8] Parks M, Rosebraugh C. Weighing risks and benefits of liraglutide--the FDA's review of a new antidiabetic therapy [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(9): 774-777.
- [9] Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination [J]. *AnnuRev Biochem*, 2001, 70: 503-533.
- [10] Yang XD, Xiang DX, Yang YY. Role of E3 ubiquitin ligases in insulin resistance [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2016, 18(8): 747-754.
- [11] Song R, Peng W, Zhang Y, et al. Central role of E3 ubiquitin ligase MG53 in insulin resistance and metabolic disorders [J]. *Nature*, 2013, 494(7437): 375-379.
- [12] Yi JS, Park JS, Ham YM, et al. MG53-induced IRS-1 ubiquitination negatively regulates skeletal myogenesis and insulin signalling [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2354.
- [13] Bhagwandin C, Ashbeck EL, Whalen M, et al. The E3 ubiquitin ligase MARCH1 regulates glucose-tolerance and lipid storage in a sex-specific manner [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0204898.
- [14] Yang S, Wang B, Humphries F, et al. The E3 ubiquitin ligase Pellino3 protects against obesity-induced inflammation and insulin resistance [J]. *Immunity*, 2014, 41(6): 973-987.
- [15] Tong X, Zhang D, Guha A, et al. CUL4-DDB1-CDT2 E3 ligase regulates the molecular clock activity by promoting ubiquitination-dependent degradation of the mammalian CRY1 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139725.
- [16] Tong X, Zhang D, Charney N, et al. DDB1-mediated CRY1 degradation promotes FOXO1-driven gluconeogenesis in liver [J]. *Diabetes*, 2017, 66(10): 2571-2582.
- [17] 刘栩晗, 李国生, 朱华, 等. 小檗碱对 2 型糖尿病中国地鼠肝脏葡萄糖激酶、葡萄糖-6-磷酸酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 mRNA 表达的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2008, 18(4): 9-13.
- [18] Moller DE. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome [J]. *Nature*, 2001, 414(6865): 821-827.
- [19] Sheahan KH, Wahlberg EA, Gilbert MP. An overview of GLP-1 agonists and recent cardiovascular outcomes trials [J]. *Postgrad Med J*, 2020, 96(1133): 156-161.
- [20] Lu M, Wan M, Leavens KF, et al. Insulin regulates liver metabolism in vivo in the absence of hepatic Akt and Foxo1 [J]. *Nat Med*, 2012, 18(30): 388-395.
- [21] Dong XC, Copps KD, Guo S, et al. Inactivation of hepatic Foxo1 by insulin signaling is required for adaptive nutrient homeostasis and endocrine growth regulation [J]. *Cell Metab*, 2008, 8(1): 65-76.
- [22] Fan R, Kang Z, He L, et al. Exendin-4 improves blood glucose control in both young and aging normal non-diabetic mice, possible contribution of beta cell independent effects [J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e20443.
- [23] Zhang EE, Liu Y, Dentin R, et al. Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis [J]. *Nat Med*, 2010, 16(10): 1152-1156.
- [24] Lamia KA, Papp SJ, Yu RT, et al. Cryptochromes mediate rhythmic repression of the glucocorticoid receptor [J]. *Nature*, 2011, 480(7378): 552-556.
- [25] Jang H, Lee GY, Selby CP, et al. SREBP1c-CRY1 signalling represses hepatic glucose production by promoting FOXO1 degradation during refeeding [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12180.
- [26] Stojkovic K, Wing SS, Cermakian N. A central role for ubiquitination within a circadian clock protein modification code [J]. *Front Mol Neurosci*, 2014, 7: 69.

[收稿日期] 2020-08-28