

· 论著 ·

曲古霉素调节肝细胞糖异生的机制研究

史亚男 穆标 周晓丽 闫丽辉 左湘川 袁继红

【摘要】 目的 探讨组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂曲古霉素参与调节肝细胞糖异生的机制。**方法** 体外培养人肝细胞系 HL7702, 分为对照组(5 μ l DMSO)、胰岛素组(5 μ l DMSO + 100 nmol/L 胰岛素)、曲古霉素联合胰岛素组(2 mol/L 曲古霉素 + 100 nmol/L 胰岛素)、地塞米松组(1 mol/L 地塞米松)、曲古霉素联合地塞米松组(2 mol/L 曲古霉素 + 1 mol/L 地塞米松)。采用体外葡萄糖输出、Western 印迹和实时荧光定量 RT-PCR 的方法检测肝细胞体外葡萄糖输出、胰岛素信号分子蛋白激酶 B(Akt)、叉头转录因子 O1(FoxO1)的磷酸化和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)、葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)基因的表达。**结果** 与对照组相比, 胰岛素组葡萄糖输出降低($t = 5.35$, $P < 0.01$), 而与胰岛素组相比, 曲古霉素联合胰岛素组葡萄糖输出增加($t = -14.049$, $P < 0.01$); 与对照组相比, 地塞米松组葡萄糖输出升高($t = -2.782$, $P < 0.01$), 与地塞米松组相比, 曲古霉素联合地塞米松组葡萄糖输出升高($t = -2.955$, $P < 0.05$)。与对照组相比, 胰岛素组磷酸化 Akt 酪氨酸 308、磷酸化 Akt 丝氨酸 473、磷酸化 FoxO1 丝氨酸 256 蛋白水平均升高($t = -5.356$ 、 -5.004 、 -3.073 , P 均 < 0.05), PEPCK 和 G6Pase mRNA 水平均降低($t = 5.215$ 、 4.777 , P 均 < 0.01); 与胰岛素组相比, 曲古霉素联合胰岛素组磷酸化 Akt 酪氨酸 308、磷酸化 Akt 丝氨酸 473、磷酸化 FoxO1 丝氨酸 256 蛋白水平均降低($t = 22.152$ 、 26.759 、 3.907 , P 均 < 0.01), PEPCK 和 G6Pase mRNA 水平均升高($t = -3.144$ 、 -2.819 , P 均 < 0.05)。**结论** 曲古霉素能够通过抑制 Akt 和 FoxO1 磷酸化活性, 促进糖异生调节基因的表达, 进而促进肝细胞葡萄糖输出。

【关键词】 曲古霉素; 蛋白激酶 B; 叉头转录因子 O1; 糖异生

基金项目: 天津市教委科研计划项目(2017KJ211); 天津医科大学科学基金(2015KYZQ07); 天津市教委科研计划项目(2016YD12)

Mechanisms of trichostatin A in the regulation of hepatocyte gluconeogenesis Shi Yanan*, Mu Biao, Zhou Xiaoli, Yan Lihui, Zuo Xiangchuan, Yuan Jihong. * Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, The Metabolic Diseases Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Yuan Jihong, Email: jyuan@tmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the mechanisms of histone deacetylase inhibitor (HDAC) inhibitor trichostatin A (TSA) in the regulation of hepatocyte gluconeogenesis. **Methods** Human HL7702 cells were cultured and divided into control group (5 μ l DMSO), insulin group (5 μ l DMSO + 100 nmol/L insulin), TSA combined with insulin group (2 mol/L TSA + 100 nmol/L insulin), dexamethasone group (1 mol/L dexamethasone) and TSA combined with dexamethasone group (2 mol/L TSA + 1 mol/L dexamethasone). *In vitro* glucose assay, Western blotting and real-time PCR were used to analyze the level of glucose production, phosphorylation of protein kinase B (Akt), forkhead box transcription factor O1 (FoxO1), gene expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) and glucose-6-phosphatase (G6Pase). **Results** Compared with control group, the glucose production was decreased in insulin group ($t = 5.35$, $P < 0.01$). Compared with insulin group, the glucose production was increased in TSA combined with insulin group ($t = -14.049$, $P < 0.01$). Compared with control group, the glucose production was increased in dexamethasone group ($t = -2.782$, $P < 0.01$), and compared with dexamethasone group, the glucose production was increased in TSA combined with dexamethasone group ($t = -2.955$, $P < 0.05$). Compared with control group, the phosphorylation of Akt at T308 and S473 as well as the phosphorylation of FoxO1 at

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2018.02.003

作者单位: 30070 天津医科大学代谢病医院内分泌研究所, 卫生部激素与发育重点实验室, 天津市代谢性疾病重点实验室(史亚男、穆标、闫丽辉、袁继红); 300011 天津市疾病预防控制中心毒理科(周晓丽); 430012 武汉市汉口医院内分泌科(左湘川)

通信作者: 袁继红, Email: jyuan@tmu.edu.cn

S256 were increased ($t = -5.356, -5.004, -3.073$, all $P < 0.05$), but the level of PEPCK mRNA and G6Pase mRNA were decreased in insulin group ($t = 5.215, 4.777$, all $P < 0.01$). Compared with insulin group, the phosphorylation of Akt at T308 and S473 as well as the phosphorylation of FoxO1 at S256 were decreased ($t = 22.152, 26.759, 3.907$, all $P < 0.01$), but the level of PEPCK mRNA and G6Pase mRNA were increased in TSA combined with insulin group ($t = -3.144, -2.819$, all $P < 0.05$). **Conclusions** TSA stimulates the expression of gluconeogenic related genes through its inhibition of the phosphorylation of Akt and FoxO1, and therefore promotes glucose output of hepatic cells.

【Key words】 Trichostatin A; Protein kinase B; Forkhead box transcription factor O1; Gluconeogenesis

Fund program: The Science & Technology Development Fund of Tianjin Education Commission for Higher Education (2017KJ211); Tianjin Medical University Fund (2015KYZQ07); The Science & Technology Development Fund of Tianjin Education Commission for Higher Education (2016YD12)

肝糖异生能力增强是 2 型糖尿病的重要标志,也是其早期病理特点,糖尿病患者较正常人葡萄糖生成水平高 40%^[1]。葡萄糖 6 磷酸酶(G6Pase)和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)是葡萄糖生成的关键酶,针对它们的调节成为临床上 2 型糖尿病药物研发的策略之一。组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂目前作为血液和实体恶性肿瘤的临床Ⅲ期研发药物,也参与 2 型糖尿病的调节,其中,HDAC I/II 抑制剂曲古霉素作为抗肿瘤药物在肿瘤研究中得到应用,而 HDAC I/II 对高脂诱导的肥胖型小鼠能量代谢和胰岛素敏感性的研究表明,抑制 HDAC I/II 后,小鼠胰岛素敏感性得到调节,肌肉和脂肪组织的氧化磷酸化和线粒体功能增强^[2-5]。蛋白激酶 B(Akt)是胰岛素信号下游的关键分子,通过调节下游的糖、脂代谢参与肝组织对胰岛素敏感性的调节^[4]。因此,本研究旨在揭示 HDAC I/II 抑制剂曲古霉素对于肝细胞中糖异生关键酶基因的调节机制。

1 材料与方法

1.1 材料 人肝细胞系(HL7702)为本实验室留存,10%胎牛血清、RPMI 1640、青霉素(100 IU/ml)及链霉素(100 μg/ml)完全培养基购自 Gibco 公司。所用主要试剂:BCA 蛋白浓度试剂盒、Trizol 和 RIPA 裂解液购自北京博迈德科技发展有限公司;磷酸化 Akt(Ser473)/Akt 抗体、磷酸化 Akt(Thr308)/Akt 抗体、磷酸化叉头转录因子 O1(FoxO1)(Ser256)/FoxO1 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;HDAC 抑制剂曲古霉素购自美国 MCE 公司;β-Actin 抗体购自中杉金桥生物技术有限公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购自美国 Invitrogen 公司;HRP 标记的山羊抗小鼠二抗购自美国 Santa Cruz 公司;ECL 发光液购自美国 Millipore 公司;逆转录试剂盒购自 Thermo 公司,SGExcel FastSYBR Mixture 购自生工生物工程(上海)有限公司;地塞米

松、DL-乳酸钠、丙酮酸购自美国 Sigma 公司;PCR 引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理 人肝细胞系 HL7702 培养于含 10% 胎牛血清、100 IU/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素的 1640 培养基中,传代两次后接种于 6 孔培养板,待细胞汇合至 70%~80%,替换为 1 ml 无血清培养基培养 12 h 后将细胞进行分组,对照组:5 μl DMSO 作用 7 h;胰岛素组:5 μl DMSO 作用 7 h,加入 100 nmol/L 人工合成胰岛素诺和灵®注射液(诺和诺德公司)作用 15 min;曲古霉素联合胰岛素组:2 mol/L 曲古霉素(溶于 5 μl DMSO)作用 7 h,再加入 100 nmol/L 胰岛素作用 15 min;地塞米松组:1 mol/L 地塞米松作用 24 h;曲古霉素联合地塞米松组:1 mol/L 地塞米松作用 24 h,加入 2 mol/L 曲古霉素作用 7 h。干预结束后,PBS 洗涤细胞并收集,3 000 g 离心 5 min,弃上清并置于 -80℃ 冰箱,用于 RNA 和蛋白提取,实验设置 3 个重复。

1.2.2 葡萄糖生成分析实验 正常培养条件下,待细胞汇合至 70%~80% 时,将培养基改为添加 20 mmol/L DL-乳酸钠和 2 mmol/L 丙酮酸钠溶液的无糖、无酚红的 1640 培养基,细胞分为对照组、胰岛素组、曲古霉素联合胰岛素组、地塞米松组、曲古霉素联合地塞米松组,处理条件同上。收集各组细胞培养上清液并离心去除细胞残渣,用 GAGO-20 葡萄糖分析试剂盒(Sigma 公司)检测培养基中葡萄糖含量,实验设置 3 个重复。

1.2.3 Western 印迹法检测细胞中蛋白含量 人肝细胞系 HL7702 细胞分为对照组、胰岛素组、曲古霉素联合胰岛素组,处理条件同上。收集细胞后加入 RIPA 和 PMSF 混合裂解液,冰上裂解 10 min,4℃,12 000 g 离心 10 min,BCA 方法测定蛋白浓度,每孔上样量 25 μg,基层胶电压 60 V,待溴酚蓝进入分离胶后,调整电压至 120 V,待溴酚蓝至分离胶底,转膜

仪转膜,5%脱脂奶37℃封闭2 h,加入一抗[兔抗磷酸化 Akt (Tyr308)/Akt 抗体、磷酸化 Akt (Ser473)/Akt 抗体、磷酸化 FoxO1 (Ser256)/FoxO1 抗体,1:2 000],4℃摇床过夜,TBST洗膜4次,10 min/次,加入二抗(HRP 标记山羊抗兔 IgG,1:2 000),37℃孵育2 h,加入 ECL 发光液曝光显影。底片采用 Image J 软件进行图像分析,以目的蛋白与内参蛋白灰度值的比值表示蛋白的相对表达量。

1.2.4 实时荧光定量 RT-PCR 实验 人肝细胞系 HL7702 细胞分为对照组、胰岛素组、曲古霉素联合胰岛素组,处理条件同上。(1)总 RNA 的提取:用 TRizol 法提取收集细胞中的总 RNA。(2)cDNA 合成:总体积 20 μ l,含总 RNA 2 μ g,随机引物 (Oligo dT) 0.5 μ l, random hexamer primer 0.5 μ l, 65℃ 5 min,冰上迅速冷却。再加 5 \times 反应缓冲液 2.0 μ l,反转录酶 0.5 μ l,DEPC 水补足 20 μ l。反应条件为:25℃ 5 min,42℃ 60 min,70℃ 5 min。-20℃保存备用。(3)实时荧光定量 PCR 反应体系:总体积 20 μ l,含 2 \times SYBR Green 5 μ l,10 mol/L 上、下游引物各 0.2 μ l,cDNA 0.5 μ l,DEPC 水 4.1 μ l。反应条件:95℃ 5 s,95℃ 5 s,59℃ 10 s,72℃ 30 s,40 个循环;95℃ 10 s,65℃ 5 s,95℃ 5 s。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算每个样品目的基因经内参基因标准化后的 mRNA 相对表达,引物序列见表 1。

1.3 统计学处理 3 次重复实验数据处理与统计采用 Stetview 软件,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 葡萄糖生成分析实验结果 与对照组相比,胰岛素组葡萄糖输出降低($t = 5.35, P < 0.01$);而与胰岛素组相比,曲古霉素联合胰岛素组葡萄糖输出升高($t = -14.049, P < 0.01$),见图 1A。与对照组

表 1 引物序列

引物名称	引物序列	扩增片段长度
PEPCK	上游 5'-TCCTGGAAGAATAAGGAGTGA-3'	142 bp
	下游 5'-ATAATGCCTTCAATGGGAACAC-3'	
G6Pase	上游 5'-GCCACATCCACAGCATCTATAA-3'	118 bp
	下游 5'-CCAGAGTCCACAGGAGGTCTAC-3'	
β -actin	上游 5'-ACTCTTCCAGCCTTCCTTC-3'	100 bp
	下游 5'-ACAGGCTTTGCGGATGT-3'	

注:PEPCK:磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶;G6Pase:葡萄糖-6-磷酸酶; β -actin: β -肌动蛋白

相比,地塞米松组葡萄糖输出升高($t = -2.782, P < 0.01$);而与地塞米松组相比,曲古霉素联合地塞米松组葡萄糖输出升高($t = -2.955, P < 0.05$),见图 1B。

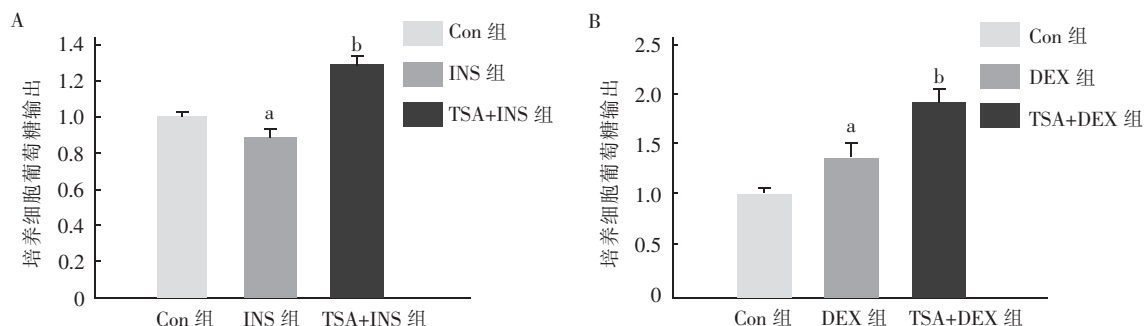
2.2 曲古霉素抑制胰岛素信号分子 Akt 磷酸化 与对照组相比,胰岛素组磷酸化 Akt Thr308 ($t = -5.356, P < 0.05$) 和 Ser473 ($t = -5.004, P < 0.05$) 水平均升高,与胰岛素组相比,胰岛素联合曲古霉素组磷酸化 Akt Thr308 ($t = 22.152, P < 0.01$) 和 Ser473 ($t = 26.759, P < 0.01$) 水平均降低,见图 2。

2.3 曲古霉素抑制胰岛素刺激的 FoxO1 磷酸化 与对照组相比,胰岛素组磷酸化 FoxO1 Ser256 水平升高($t = -3.073, P < 0.05$),与胰岛素组相比,曲古霉素联合胰岛素组磷酸化 FoxO1 Ser256 水平降低($t = 3.907, P < 0.05$),见图 3。

2.4 曲古霉素刺激胰岛素抑制的糖异生基因表达 与对照组相比,胰岛素组 PEPCK 和 G6Pase mRNA 水平均降低($t = 5.215, 4.777, P$ 均 < 0.01),与胰岛素组相比,曲古霉素联合胰岛素组 PEPCK 和 G6Pase mRNA 水平均升高($t = -3.144, -2.819, P$ 均 < 0.05),见图 4。

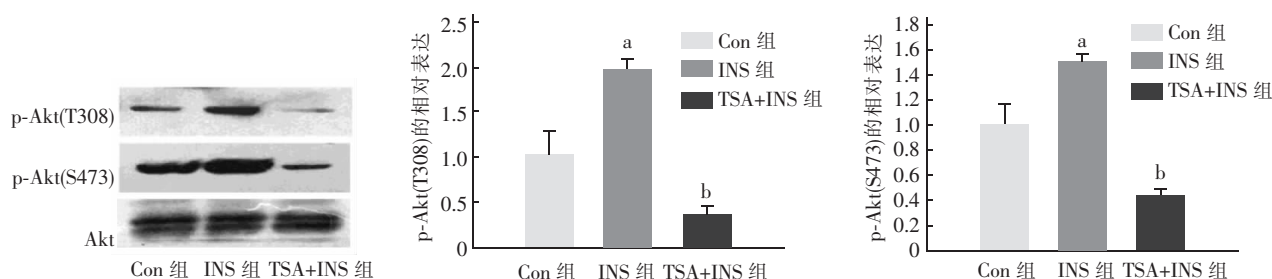
3 讨论

肝糖代谢异常是糖尿病、肥胖、非酒精性脂肪性



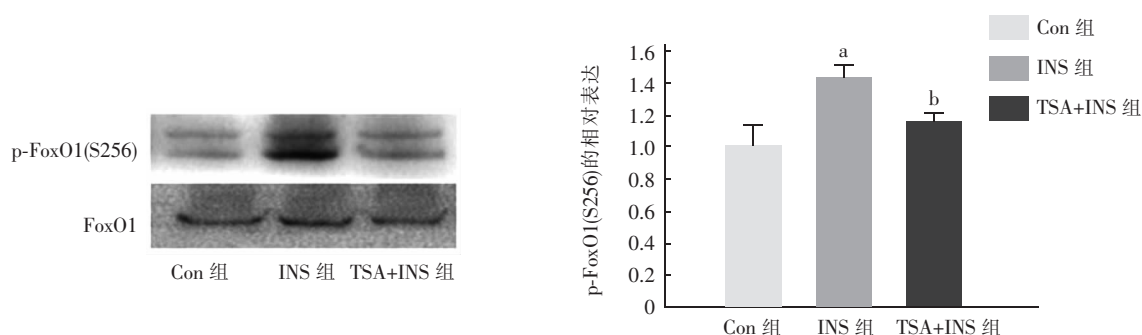
注:与 Con 组相比,* $P < 0.05$;与 INS 组或 DEX 组相比,^b $P < 0.05$;Con 组:对照组;INS 组:胰岛素组;TSA+INS 组:曲古霉素联合胰岛素组;DEX 组:地塞米松组;TSA+DEX 组:曲古霉素联合地塞米松组

图 1 曲古霉素对胰岛素和地塞米松依赖的葡萄糖输出的作用



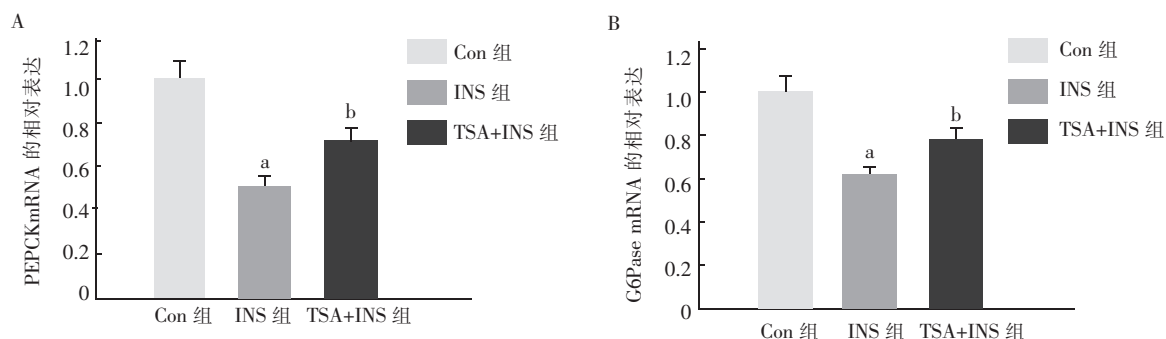
注:与 Con 组相比,^a $P<0.05$;与 INS 组相比,^b $P<0.05$;Con 组:对照组;INS 组:胰岛素组;TSA+INS 组:曲古霉素联合胰岛素组;Akt:蛋白激酶 B;p-Akt:磷酸化蛋白激酶 B;T308:酪氨酸 308 位点;S473:丝氨酸 473 位点

图 2 曲古霉素抑制胰岛素信号分子 Akt 磷酸化



注:与 Con 组相比,^a $P<0.05$;与 INS 组相比,^b $P<0.05$;Con 组:对照组;INS 组:胰岛素组;TSA+INS 组:曲古霉素联合胰岛素组;FoxO1:叉头转录因子 O1;p-FoxO1:磷酸化 FoxO1;S256:丝氨酸 256 位点

图 3 曲古霉素抑制胰岛素信号分子 FoxO1 磷酸化



注:与 Con 组相比,^a $P<0.05$;与 INS 组相比,^b $P<0.05$;Con 组:对照组;INS 组:胰岛素组;TSA+INS 组:曲古霉素联合胰岛素组;PEPCK:磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶;G6Pase:葡萄糖-6-磷酸酶

图 4 曲古霉素促进 PEPCK 及 G6Pase mRNA 的表达

肝病等的主要病理因素,其主要发病机制为肝脏胰岛素抵抗导致的糖异生和糖原分解功能紊乱,使得肝糖输出增多,其中糖异生的作用尤为显著^[5-6]。糖异生的调节与两种主要限速酶的基因表达有关,G6Pase 和 PEPCK 是糖异生途径的关键酶,其转录的多少决定着糖异生的速度^[7]。胰岛素通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶/Akt 信号转导通路,使 FoxO1 磷酸化,导致 FoxO1 从细胞核内排出到细胞质而失去转录活性,抑制 G6Pase 及 PEPCK 基因表达。当胰岛素水平下降时,FoxO1 与胰岛素受体底物-2 结合,再次活化 G6Pase 及 PEPCK 基因,产生相应的生理作用^[8-9]。因此胰岛素依赖的 Akt/FoxO1 信号通路在

调节肝脏糖异生中发挥了重要的作用。

本研究采用 HDAC I/II 类抑制剂曲古霉素,观察其对肝细胞胰岛素信号途径的调节作用,发现曲古霉素能够拮抗胰岛素抑制的葡萄糖输出,还能够促进地塞米松刺激的葡萄糖输出,从而使肝细胞中葡萄糖输出增加。进一步的实验发现,曲古霉素能够抑制肝细胞中胰岛素依赖的 Akt Ser473 以及 Thr308 位点的磷酸化,并且能够抑制其下游 FoxO1 Ser256 位点的磷酸化,从而促进了糖异生调节因子 PEPCK 以及 G6pase 的表达。本研究结果表明,HDAC 抑制剂曲古霉素能够通过抑制胰岛素信号中 Akt/FoxO1 的磷酸化,促进糖异生关键酶 PEPCK 和

G6Pase 基因的表达,影响糖异生并促进了肝细胞葡萄糖的输出。

HDAC 已成为肥胖和 2 型糖尿病调控的一个新的分子靶标,分为 HDAC I、HDAC II 和 HDAC III 3 类^[10]。研究表明,HDAC I 有很强的催化活性,而且是很的 HDAC 抑制剂的靶点,HDAC II 有较弱的生物学活性,而且其生物学活性依赖于 HDAC I,本实验所用 HDAC 抑制剂曲古霉素能够抑制 I 类和 II 类 HDAC。研究表明,HDAC 通过调节胰岛素信号分子的转录活性参与调节糖代谢,包括抑制葡萄糖转运蛋白 4 的转录来抑制葡萄糖摄取,调控 FoxO 家族的活性,对糖异生关键酶的表达进行调节,从而促进糖异生^[11-13]。且 HDAC 抑制剂曲古霉素能够促进骨骼肌对葡萄糖的摄取和糖原合成,缓解胰岛素抵抗^[14]。但是对于 HDAC 抑制剂在肝糖代谢中发挥的作用并不明确。本实验结果提示,曲古霉素对于肝脏糖异生的调节可能存在促进作用,且该作用是通过抑制 Akt/FoxO1 信号通路实现的。现有的文献表明,HDAC 抑制剂对于 Akt 信号通路的调节也不尽相同,有研究发现,在骨骼肌中曲古霉素能够通过促进 Akt 活化,调节胰岛素信号通路,促进糖原合成和葡萄糖摄取^[14]。且心肌细胞中也存在相似的调节方式^[15]。但曲古霉素也能够抑制 Akt 磷酸化,进而抑制胆囊癌细胞增殖、卵圆细胞的存活和迁移以及早期肺纤维化^[16-19]。说明曲古霉素能够负调节 Akt 活性,进而调节细胞功能,这与笔者的发现一致。结合 Ma 等^[20]的发现,小鼠和人的肝癌细胞不存在糖异生,当应用地塞米松处理细胞时,细胞的糖异生得到恢复,最终体现出其抗肝癌疗效。由此推测曲古霉素作为抗肿瘤药物,其作用机制也可能包括它对 Akt 活性的抑制进而刺激细胞糖异生,从而起到抗癌的效果。总之,HDAC 抑制剂曲古霉素作为临床上抗肿瘤药物的研发目标,能够通过抑制 Akt 和 FoxO1 磷酸化活性,进而促进糖异生调节基因 PEPCK 和 G6Pase 的表达和肝细胞葡萄糖输出。

参 考 文 献

- [1] Chung ST, Hsia DS, Chacko SK, et al. Increased gluconeogenesis in youth with newly diagnosed type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2015, 58 (3): 596-603. DOI: 10.1007/s00125-014-3455-x.
- [2] Cang S, Ma Y, Liu D. New clinical developments in histone deacetylase inhibitors for epigenetic therapy of cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2009, 2: 22. DOI: 10.1186/1756-8722-2-22.
- [3] Ma X, Ezzeldin HH, Diasio RB. Histone deacetylase inhibitors: current status and overview of recent clinical trials [J]. *Drugs*, 2009, 69 (14): 1911-1934. DOI: 10.2165/11315680-000000000-00000.
- [4] Ye J. Improving insulin sensitivity with HDAC inhibitor [J]. *Diabetes*, 2013, 62 (3): 685-687. DOI: 10.2337/db12-1354.
- [5] Moller DE. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome [J]. *Nature*, 2001, 414 (6865): 821-827. DOI: 10.1038/414821a.
- [6] 赵惠中, 萧建中, 杨文英, 等. 肝脏胰岛素抵抗与肝糖输出调控基因表达的关系 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2006, 14 (1): 45-48. DOI: 10.3760/j.issn:1007-3418.2006.01.012.
- [7] Goto M, Yoshioka T, Battelino T, et al. TNF α decreases gluconeogenesis in hepatocytes isolated from 10-day-old rats [J]. *Pediatr Res*, 2001, 49 (4): 552-557. DOI: 10.1203/00006450-200104000-00018.
- [8] Kodama S, Moore R, Yamamoto Y, et al. Human nuclear pregnane X receptor cross-talk with CREB to repress cAMP activation of the glucose-6-phosphatase gene [J]. *Biochem J*, 2007, 407 (3): 373-381. DOI: 10.1042/BJ20070481.
- [9] Matsuzaki H, Daitoku H, Hatta M, et al. Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100 (20): 11285-11290. DOI: 10.1073/pnas.1934283100.
- [10] Guan KL, Xiong Y. Regulation of intermediary metabolism by protein acetylation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36 (2): 108-116. DOI: 10.1016/j.tibs.2010.09.003.
- [11] Raciti GA, Nigro C, Longo M, et al. Personalized medicine and type 2 diabetes: lesson from epigenetics [J]. *Epigenomics*, 2014, 6 (2): 229-238. DOI: 10.2217/epi.14.10.
- [12] McGee SL, Hargreaves M. Histone modifications and skeletal muscle metabolic gene expression [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37 (3): 392-396. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05311.x.
- [13] Oiso H, Furukawa N, Suefukuji M, et al. The role of class I histone deacetylase (HDAC) on gluconeogenesis in liver [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404 (1): 166-172. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.11.086.
- [14] Sun C, Zhou J. Trichostatin A improves insulin stimulated glucose utilization and insulin signaling transduction through the repression of HDAC2 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76 (1): 120-127. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.04.004.
- [15] 曹晨, 吴洋, 冷燕, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂介导的 Akt/Gsk3 β 通路激活在糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤中的保护作用 [J]. *武汉大学学报 (医学版)*, 2016, 37 (3): 354-357. DOI: 10.14188/j.1671-8852.2016.03.003.
- [16] Zhang P, Guo Z, Wu Y, et al. Histone deacetylase inhibitors inhibit the proliferation of gallbladder carcinoma cells by suppressing AKT/mTOR signaling [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (8): e0136193. DOI: 10.1371/journal.pone.0136193.
- [17] Zhang P, Zhu X, Wu Y, et al. Histone deacetylase inhibitors reduce WB-F344 oval cell viability and migration capability by suppressing AKT/mTOR signaling *in vitro* [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 590: 1-9. DOI: 10.1016/j.abb.2015.11.004.
- [18] Li LF, Lee CS, Lin CW, et al. Trichostatin A attenuates ventilation-augmented epithelial-mesenchymal transition in mice with bleomycin-induced acute lung injury by suppressing the Akt pathway [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (2): e0172571. DOI: 10.1371/journal.pone.0172571.
- [19] Guo W, Shan B, Klingsberg RC, et al. Abrogation of TGF- β 1-induced fibroblast-myofibroblast differentiation by histone deacetylase inhibition [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 297 (5): L864-L870. DOI: 10.1152/ajplung.00128.2009.
- [20] Ma R, Zhang W, Tang K, et al. Switch of glycolysis to gluconeogenesis by dexamethasone for treatment of hepatocarcinoma [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2508. DOI: 10.1038/ncomms3508.

(收稿日期: 2017-08-28)