

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.31.051

AMPK: 细胞能量中枢*

熊延路¹ 王明星² 韩勇² 李小飞² 卢强² 高明² 赵晋波^{2Δ}

(1 第四军医大学学员旅 陕西 西安 710032; 2 第四军医大学唐都医院胸腔外科 陕西 西安 710038)

摘要:腺苷酸活化蛋白激酶(AMP activated protein kinase, AMPK)是真核细胞中高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,以异源三聚体的形式广泛存在于真核生物体内,是细胞的能量感受器,在能量代谢调控中起极其重要的作用。肝激酶 B1(LKB1)、Ca²⁺/CaM-依赖蛋白激酶激酶 β(CaMKKβ)、AMP/ATP 或 ADP/ATP 比值升高以及诸如运动肌肉收缩等生理刺激均可以激活 AMPK,进而调节细胞的能量代谢网络,提高其应对内外环境变化的能力,从而维持细胞水平乃至整个机体的稳定状态。活化的 AMPK 可以增强分解代谢,抑制合成代谢,上调 ATP 水平,参与细胞糖代谢、脂肪代谢、蛋白质代谢等能量代谢过程,增加细胞能量储备,应对能量缺乏。同时活化的 AMPK 参与细胞的生长、增殖、凋亡、自噬等基本生物学过程。AMPK 是研究肥胖、糖尿病等能量代谢性疾病的核心理论。肿瘤细胞存在特殊的能量代谢方式,其发生、生长、转移与能量代谢失衡密切相关。AMPK 与肿瘤细胞异常的能量代谢相关,为肿瘤发生、发展机制研究提供新的策略。本文主要探讨 AMPK 的结构、激活机制、参与的物质能量代谢和细胞的基本生物学过程以及与肿瘤发生的关联。

关键词:腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK); 营养代谢; 能量代谢; 肿瘤发生

中图分类号:R-332; R322.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)31-6190-07

AMPK: Cellular Energy Centre*

XIONG Yan-lu¹, WANG Ming-xing², HAN Yong², LI Xiao-fei², LU Qiang², GAO Ming², ZHAO Jin-bo^{2Δ}

(1 Cadet Bridge, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Dept. of Thoracic Surgery, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT: AMP activated protein kinase (AMPK) is a highly conserved Ser/Thr protein kinase in eukaryotic cells, in which the kinase exists in a shape of heterotrimer. It is an essential cellular energy sensor, which plays an important role in the regulation of energy metabolism. Liver Kinase B1 (LKB1), Ca²⁺/CaM-dependent protein kinaseβ (CaMKKβ), the increasing ratio of AMP/ATP or ADP/ATP, and other physiological stimulations such as exercise, muscle contraction which can activate AMPK, regulate cellular energy metabolism and facilitate to adapt to nutrient stress, so the cell and whole body homeostasis can be assured. Activation of AMPK can increase the level of ATP by enhancing catabolism and inhibiting constructive metabolism, involving in glycometabolism, lipidmetabolism and proteometabolism, increasing the energy reserve, which can deal well with the energy deficiency. AMPK is also involved in cell growth, proliferation, apoptosis, autophagy and other basic biological processes. AMPK is a core point to study the metabolic diseases including diabetes mellitus and obesity. Imbalanced energy metabolism is associated with tumorigenesis, progression and metastasis. AMPK plays a role in linking metabolic syndrome and cancer, providing a new strategy for the study of cancerous occurrence and development mechanism. This paper will focus on the cellular energy central function of AMPK and the relationship with cancer.

Key words: AMP activated protein kinase (AMPK); Nutrient metabolism; Energy metabolism; Tumorigenesis

Chinese Library Classification:R-332; R322.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)31-6190-07

前言

腺苷酸活化的蛋白激酶 (AMPK) 即 AMP 依赖的蛋白激酶, 是一种在真核细胞中高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是生物能量代谢调节的关键分子, 是研究糖尿病及其他代谢相关疾病的核心。它表达于各种代谢相关的器官中, 能被机体各种刺激激活, 包括细胞压力胁迫、运动和很多激素及能影响细胞代谢的物质。AMPK 广泛存在于哺乳动物几乎所有组织

中, 发挥重要的能量调控作用。研究表明, AMPK 是机体保持各种代谢平衡所必需的。本文综述 AMPK 历史、结构、分子机制及在能量代谢和肿瘤发生过程中的研究进展。

1 AMPK 的发现

Beg 等首先发现一种与羟甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶活性相关的蛋白激酶, 可被 ADP 激活^[1]。Kim 等发现了一种乙酰辅酶 A (乙酰 CoA) 羧化酶激酶相似的

* 基金支持: 国家自然科学基金项目(81001041)

作者简介: 熊延路(1993-), 男, 电话: 15529340808, E-mail: 15529340808@163.com

Δ 通讯作者: 赵晋波, 电话: 029-84777437, 研究方向: 肺癌发生机制, E-mail: zhaojinbo@aliyun.com

(收稿日期: 2014-03-12 接受日期: 2014-04-10)

特性的酶^[2]。Hardie 等证实了两种酶是同一种酶即 AMPK。AMPK 最初被认为是乙酰 CoA 羧化酶和 HMG-CoA 还原酶这两种脂代谢关键酶的上游调节酶。直至 1988 年才开始使用腺苷酸活化的蛋白激酶(AMPK)这一称呼^[3]。

2 AMPK 的结构

不同物种的 AMPK 蛋白均以一种异源三聚体复合物的形式存在,包括一个 α -催化亚基、一个 β -调节亚基和一个 γ -调节亚基组成。人类和啮齿动物分别由不同的基因表达两种亚型的 α -亚基和 β -亚基 ($\alpha1$ 、 $\alpha2$; $\beta1$ 、 $\beta2$)。三种亚型的 γ -亚基 ($\gamma1$ 、 $\gamma2$ 、 $\gamma3$)^[4]。不同亚基及其构成同种型根据其功能在不同组织的表达和细胞内定位不同,同时可以改变在细胞内的定位来适应细胞的需要。

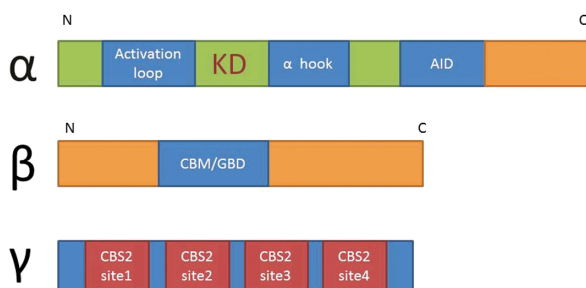


图1 AMPK 构成模式图

Fig.1 The Structure Pattern of AMPK

不同亚基构成不同,功能各异。 α 催化亚基的 N 端含有激酶区域(KD),也称催化区,包含激活环, α -钩状结构和自我抑制序列(AID)三个重要结构域。 α -亚基 N 端包含一个保守的 Ser/Thr 激酶区,具有一个保守的苏氨酸(Thr-172)位点,该位点的磷酸化是酶活化所必需的。激活环中 Thr172 可被上游磷酸化酶 LKB1, CaMKK β 等磷酸化,从而激活 AMPK^[5]。 α -钩状结构可以调节激酶区域和调节结构的交流,阻止 Thr172 去磷酸化^[6]。另外还包括一个自抑制区(Auto-inhibitory domain)和一个与 β -亚基和 γ -亚基结合的区域。AID 调控 KD 在非磷酸化的开放状态与磷酸化的关闭状态间的转变,从而调控 KD 在非活化与活化或半活化状态之间转变^[7]。AID 从 KD 的背后结合到其关键枢纽部位,并同时与 N 端和 C 端发生联系,形成 AID-KD 状态,从而降低了 α -亚基的流动性,导致激酶的活性下降^[7]。KD 不仅决定 AMPK 的活性,同时直接影响三聚体的稳定性^[4]。 α 亚基的 C 端负责结合 β 亚基。 β -亚基包含两个保守的区域--一个中间的糖原结合区和一个 C-末端与其他两个亚基的结合区。 β 亚基的 N 端多个区域被豆蔻酰化和磷酸化,且含有糖原结合域(CBM/GBD),该域可以结合糖原,抑制 AMPK 活性^[8]。 β 亚基的 C 端负责锚定 α 、 γ 亚基。但是 β 亚基不仅起到支架链接作用,且含有自我抑制功能,调控 AMPK 活性,对形成稳定的三聚体发挥重要作用^[9]。 γ 亚基含有四个胱硫醚 β 合酶序列(CBS)串联重复序列构成四个核苷酸的结合位点(位点 1,2,3,4)。位点 2 通常不结合核苷酸,位点 1,3,4 可以被核苷酸占据,其中位点 4 被 AMP 永久占据,起到的功能尚不知晓。位点 1,3 核苷酸结合状态可变^[9]。位点 1,3 结合核苷酸的能力不

同,据此可分为紧密结合点和微弱结合点,发挥不同的作用。其中位点 1 为紧密结合点,AMP/ADP/ATP 结合位点 1 的能力相同,大约是位点 3 的 50 倍。但是只有位点结合 AMP 时,才能发挥变构效应,激活 AMPK;位点 3 为微弱结合点,结合 AMP/ADP,阻止 Thr172 去磷酸化,活化 AMPK^[10]。

Xiao 等提出 AMPK 结构的一般形态:一个完整的 α 亚基, β 亚基的 C 端结构域和一个完整的位点 3,4 结合 AMP 的 γ 亚基。 α 亚基的 N 端构成的激酶区域与 α 、 β 亚基 C 端构成的调节结构相毗邻,而 γ 亚基包含的底物结合位点正对复合物的剩余部分^[10]。

Zhu 等通过微粒电子显微技术重建出 AMPK 晶体结构:三个亚基单体以 C3 对称模式排列,即单体间平面角度约 120°,每个单体结构不规则,可以大致划分为一个扁平 A 区和一个球形 B 区。单体的 A 区是激酶核心结构的唯一适宜定位点,该区包含一个完整的 γ 亚基和 α 、 β 亚基的 C 端结构域。单体 B 区包含 AID 序列在内的 KD,而激活环在晶体结构中没有显现,可能是由于它的形成依赖于复合物呈现其整体全长结构。GBD 定位在 A 区和 B 区的毗邻部分^[11]。

3 AMPK 的激活机制

AMPK 的激活机制包括激活环磷酸化,变构效应和阻止脱磷酸化三种机制。AMPK α 亚基中 KD 上 Thr172 可以被上游激酶 LKB1, CaMKK β 等磷酸化,从而激活 AMPK^[12,13]。当体内 AMP/ATP 或 ADP/ATP 比值增加, γ 亚基不同位点结合 AMP/ADP,通过阻止 Thr172 去磷酸化和变构效应增强 AMPK 活性^[14,15]。

如上文所述,不同结合位点的结合能力不同,激活机制也不同。位点 1 结合 AMP,通过变构效应激活 AMPK,但是具体机制尚不清楚。有两种观点 Oakhill, J. S. 等认为 AMP 促进磷酸基团接近 Thr172,抑制磷酸基团移除,从而激活 AMPK^[16];Chen, L. 等认为机制涉及到 AID,AMP 结合位点 1,导致 AID 折叠,从而 AID 的抑制活性降低,AMPK 被激活^[7]。位点 3 结合 AMP/ADP,通过阻止脱磷酸化,激活 AMPK, Xiao 等为该机提供了完美的解释: α 亚基上的 α -钩状结构发挥了重要作用,该结构上的成分与位点 3 上的 AMP 发生联系,当二者以一种适宜的方式联系时,稳定了激酶区域和调节机构的结合状态,从而阻止磷酸酶接近 Thr172,阻止 Thr172 的脱磷酸化,激活 AMPK,而 ATP 结合后,这种联系被打破,激酶区域从调节机构上脱落,暴露 Thr172,进而脱磷酸化,抑制 AMPK 活性^[10]。当 β 亚基被豆蔻酰化时,核苷酸结合位点结合 AMP 也可以直接磷酸化 Thr172,激活 AMPK^[16]。 $\alpha1$ 钩状结构,AID,CBM 都在调控 AMPK 的活性中发挥重要作用。

AMP/ADP/ATP 在调控 AMPK 活性中发挥重要作用。细胞内 AMP 浓度远远低于 ADP,在生理应激主要是 ADP 取代位点 3 上的 ATP,阻止 Thr172 脱磷酸化,激活 AMPK,而在剧烈刺激下,AMP 通过结合在位点 1 发挥变构效应,增强了 AMPK 活性,ATP 减弱 AMPK 活性^[17]。同时 AMPK 可以被一系列生理刺激激活,诸如运动,肌肉收缩,生长因子/细胞活素,营养缺乏,局部缺血缺氧,热休克等。

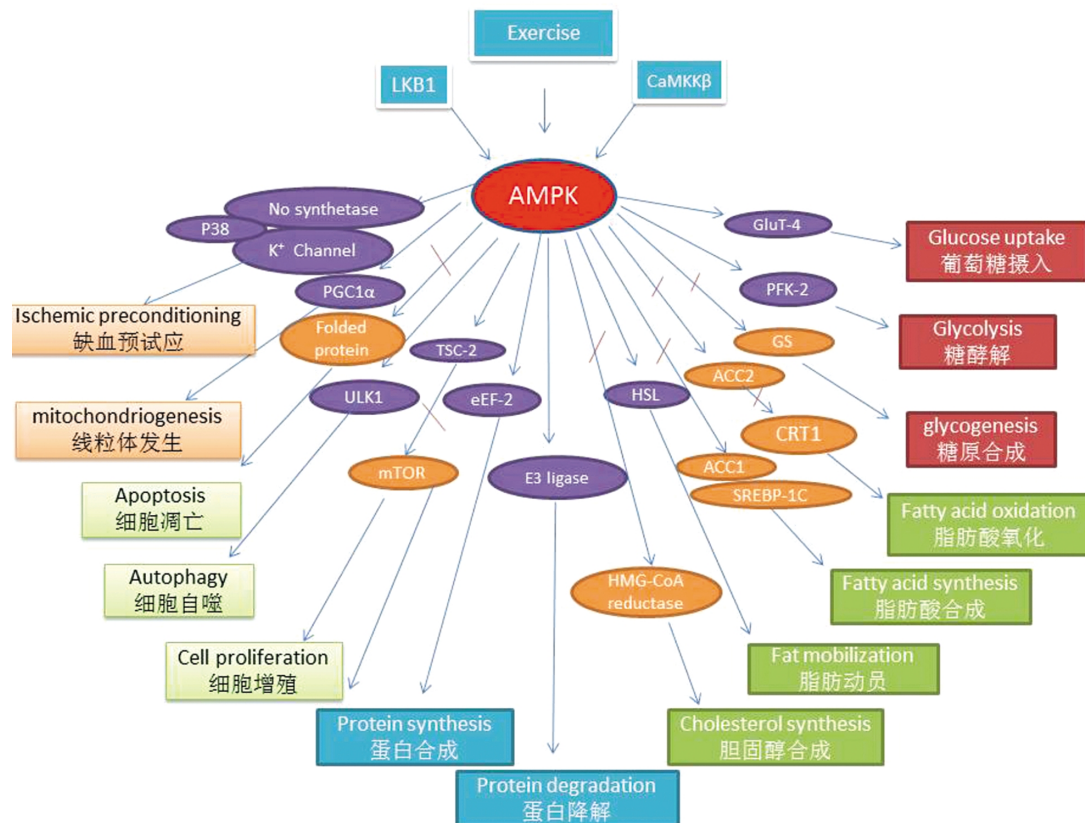


图 2 AMPK 功能模式图

Fig.2 The Function Pattern of AMPK

4 AMPK 的细胞生物学功能

活化的 AMPK 不仅可作为能量的稳定调控者,也可以影响到细胞的相关基本生物学功能。

4.1 AMPK 与细胞增殖

细胞增殖是生命体的重要生命特征,是生物体生长、发育、繁殖以及遗传的基础。细胞以分裂的方式进行增殖,真核生物主要以有丝分裂的方式产生新的细胞,过程呈动态的周期性,涉及到蛋白的合成,遗传物质的复制和分配等。在此过程中活化的 AMPK 通过激活薯蓣蛋白复合物 2(TSC-2),抑制哺乳动物雷帕霉素蛋白 1(mTOR1),抑制真核生物转录起始因子 4E 结合蛋白 1(eIF-4E-BP1)和核糖体 S6 激酶 1(S6K1),抑制核糖体内蛋白的合成,进而抑制细胞的增殖^[18,21],同时新的研究表明,AMPK 通路可以参与促进和维持上皮细胞极性的形成和细胞分裂,通路的下游可能与肌动蛋白有关^[22,23]。

另有研究表明活化的 AMPK 在营养缺乏的条件下,阻止细胞周期,机制涉及到抑制 mTOR 通路促进 DNA 损伤^[18,19],磷酸化激活肿瘤抑制物转录因子 P53 等^[24,25]。

4.2 AMPK 与细胞自噬

细胞自噬是真核生物进化保守的对细胞内物质循环利用的重要过程,即细胞内损坏的蛋白或细胞器被细胞内溶酶体等降解重利用的过程。活化的 AMPK 参与激活细胞自噬^[26,27]。

促进细胞对细胞器和胞质内大分子的消化,进而产生能量和养分应对能量营养缺乏应激^[28,29]。机制涉及到 AMPK 抑制 mTOR1 和激活自噬重要激酶 ULK1^[30,31]。

4.3 AMPK 与细胞凋亡

细胞凋亡现象普遍存在于真核生物生命活动中,是生物体正常发育、维持成体组织结构不可或缺的部分,是指细胞在一定的生理病理条件下,自己结束其生命的过程。研究表明活化的 AMPK 减弱细胞凋亡,但作用机制尚不清楚。一个观点认为与未折叠蛋白(unfolded protein response, UPR)有关,细胞内合成的蛋白需要在内质网中折叠,而在应激情况诸如局部缺血下,内质网功能降低,导致未折叠蛋白的积累,进而促进细胞凋亡。AMPK 通过减慢蛋白的合成,进而抑制未折叠蛋白在细胞内的积累,抑制心肌细胞凋亡^[32]。

4.4 AMPK 与细胞线粒体调控

活化的 AMPK 促进骨骼肌细胞线粒体基因表达和线粒体发生,与 mTOR 作用于相同的蛋白,过氧化酶增殖因子活化受体 γ 共激活因子 1a (PGC1a)。这是一种线粒体生源和氧化代谢关键的辅因子。AMPK 直接磷酸化 PGC1a, 促进其转录^[33]。mTOR 通过作用转录因子 YY1,增强 PGC1a 转录活性^[34]。

4.5 AMPK 与心肌细胞的缺血预适应

活化的 AMPK 同样影响到细胞缺血预适应,增强心肌细胞抵抗局部缺血刺激,机制可能涉及到激活 ATP 敏感的钾通道。AMPK 促进这些通道从储存膜向细胞膜的转运,进而激活,阻止钙超载,减轻细胞损伤^[35]。同时激活内皮一氧化氮合成酶和分裂激活蛋白激酶 P38 等,增强心肌细胞的缺血预适应能力^[36,37]。

5 AMPK 与物质能量代谢

AMPK 被认为是细胞的 "能量感受器" 和 "燃料表",在

维持细胞能量稳定状态中发挥重要作用,当细胞营养和能量缺乏时,活化的 AMPK 通过增强分解代谢,抑制合成代谢,提高细胞内 ATP 储备,应对营养或能量缺乏应激,其主要调控落脚在糖类、脂质和蛋白质的代谢,近年来研究表明活化的 AMPK 还参与了细胞的基本生物学功能。

5.1 AMPK 与糖代谢

活化的 AMPK 促进糖酵解,抑制糖原合成。

5.1.1 AMPK 促进葡萄糖摄入 AMPK 促进细胞葡萄糖的摄入,主要通过增加葡萄糖转运体(GluT-4)在骨骼肌细胞膜的表达与定位^[38,39]。而 GluT-4 在细胞膜的表达和定位,对细胞在应激条件下摄入葡萄糖发挥重要作用^[40,41]。其重要分子通路是胰岛素通路,胰岛素作用于胞膜上的胰岛素受体(INSR),激活胰岛素受体下游底物 1 (IRS-1),磷酸化激活 Akt,最终完成 GluT-4 在胞膜上的定位,进而增加葡萄糖的摄入^[42]。研究表明 AMPK 增加 GluT-4 在胞膜上的定位和表达的信号机制不同于胰岛素信号通路^[43-45],可能与 AS160,一种 RabGTP 酶活化蛋白,以及其同系物 TBC1D1 有关,AMPK 磷酸化激活 AS160,促进 GluT-4 从胞质囊泡向细胞膜的转运^[46-48],TBC1D1 的作用机制类似^[49,50]。

在啮齿动物的骨骼肌细胞中,用 AICAR 或运动肌肉收缩激活 AMPK 会增加 AS160 的磷酸化^[48,51],同时进一步实验表明老鼠骨骼肌细胞上 AS160 的四个重要磷酸化位点的突变会减弱肌肉收缩导致葡萄糖摄入的作用^[51]。同时 AICAR 激活 AMPK,也增强了鼠骨骼肌细胞中 TBC1D1 的磷酸化^[49,50]。均提示活化的 AMPK 增加 GluT-4 在胞膜上的表达和定位可能与 AS160 及 TBC1D 相关。

5.1.2 AMPK 促进糖酵解 AMPK 激活 6-磷酸果糖激酶-2 (PFK-2),合成 2,6-二磷酸果糖(F-2,6-P)增加,进而激活 6-磷酸果糖激酶-1(PFK-1),促进糖酵解^[52]。

5.1.3 AMPK 抑制糖原合成 AMPK 磷酸化抑制糖原合酶(GS),减少糖原合成。体外实验中,AMPK 直接磷酸化 GS^[53,54]。同时给与鼠骨骼肌细胞 AICAR,会导致 GS 显著地活性降低,并且这种减弱效应 AMPKa2 敲除后被阻止^[53],均提示活化的 AMPK 抑制 GS,减少糖原合成。

5.2 AMPK 与脂质代谢

活化的 AMPK 促进脂质的氧化分解,抑制脂质的合成。

5.2.1 AMPK 促进脂肪酸摄入 AMPK 通过促进 CD36,一种脂肪酸进入细胞的转运体,从细胞内储存膜上转运细胞膜上其活化位点,增加心肌细胞对脂肪酸的摄入^[55]。AMPK 通过促进脂蛋白酶(LPL)从心肌细胞向毛细血管内皮上的转运,促使脂肪酸从脂蛋白中裂解下来,进而增加心肌细胞对脂肪酸的摄入^[56,57]。活化 AMPK 增加了 CD36 和 LPL 的转运,提示与脂肪酸的摄入相关。

5.2.2 AMPK 促进脂肪酸氧化 AMPK 通过抑制乙酰辅酶 A 羧化酶 2(ACC2),减少丙二酰辅酶 A 的生成,解除其通过抑制肉毒碱棕榈酰转移酶 1(CRT1)系统抑制骨骼肌细胞中脂肪酸进入线粒体进行 β 氧化^[58]。

5.2.3 AMPK 促进脂肪动员 AMPK 磷酸化激活激素敏感的脂肪酶(HSL),促进甘油三酯分解为脂肪酸,即促进了脂肪动

员,进而促进骨骼肌细胞脂肪酸的氧化^[59]。体外实验证实了 AMPK 直接磷酸化激活 HSL^[60,61]。并且在鼠的 soleus 肌细胞中,强直收缩增加了 AMPK 的活性,同时也增加了 HSL 的磷酸化激活。而加入复合物 C,一种 AMPK 的抑制剂,则会阻止收缩导致的 HSL 的活性增强^[62]。

5.2.4 AMPK 抑制脂肪酸合成 AMPK 通过磷酸化抑制乙酰辅酶 A 羧化酶 1(ACC1),抑制脂肪酸的合成^[63]。同时磷酸化抑制 SREBP-1C,在转录水平抑制脂肪酸合成相关酶的表达^[64]。

5.2.5 AMPK 抑制胆固醇合成 AMPK 磷酸化抑制羟甲基戊二酸单酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶,进而抑制胆固醇的合成^[65]。

5.3 AMPK 与蛋白质代谢

活化的 AMPK 促进蛋白的分解,抑制蛋白的合成。

5.3.1 AMPK 抑制蛋白转录 AMPK 直接激活真核生物转录延伸因子 2 (eEF-2) 激酶,进而抑制真核生物转录延伸因子 (eEF-2),抑制氨基酸组装成蛋白质^[66,67]。

5.3.2 AMPK 抑制蛋白合成 AMPK 通过激活薯蓣蛋白复合物 2(TSC-2)^[18,19],抑制哺乳动物雷帕霉素蛋白 1(mTOR1),抑制真核生物转录起始因子 4E 结合蛋白 1(eIF-4E-BP1)和核糖体 S6 激酶 1(S6K1),抑制核糖体内蛋白的合成^[20,21]。

5.3.3 AMPK 促进蛋白降解 AMPK 通过激活泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome system, UPS)促进蛋白的降解,活化的 AMPK 激活转录因子 FOXO1,FOXO3 α ,促进 E3 泛素连接酶的表达^[68,69],促进降解蛋白泛素化,进而促进骨骼肌细胞蛋白降解^[70-72]。

5.4 AMPK 与肿瘤代谢平衡

肿瘤的形成极其复杂,具有独特的能量代谢方式-Warburg 现象:大多数肿瘤细胞摄取葡萄糖的能力比正常细胞强,但对葡萄糖的利用却比正常细胞差;即使在氧气充足的条件下,肿瘤细胞也主要以糖酵解代谢摄取能量,产生大量乳酸和 ATP,而不是采用产生 ATP 效率更高的线粒体氧化代谢方式。随着对肿瘤的研究深入,这种独特的能量代谢方式被广泛承认为肿瘤的新兴标志,同时提示我们可以从能量代谢入手防治肿瘤。

AMPK 作为细胞的重要能量调节者,且在细胞的基本生物学过程中发挥重要作用,受到学者们的广泛关注。一系列研究表明 AMPK 与肿瘤的发生,生长,转移等密切相关。AMPK 可以被上游激酶 LKB1、CaMKK β 激活,从而激活下游通路,发挥肿瘤抑制作用。而磷脂酰肌醇-3-羟基激酶(PI3K)/磷酸化激活蛋白激酶 B(AKT/PKB)可抑制 AMPK 活性,从而抑制其下游通路,促进肿瘤生长^[73-75]。AMPK 信号通路中作为肿瘤抑制因子的 LKB1 和磷酸酶基因(PTEN)等分子,在多种肿瘤中表达缺失,而 mTOR 过度表达^[76-79]。

药理学实验研究表明,多种药物的抗肿瘤机制涉及到 AMPK 通路的激活。例如罗格列酮通过或不通过过氧化酶体增殖活化因子受体 (PPAR),上调 PTEN 和 AMPK,下调 PI3K/AKT/mTOR/S6K1,达到抑制肿瘤细胞生长的作用^[64,80]。细胞学实验也表明 AMPK 相关信号通路的激活有抑制肿瘤的作用。例如,有学者发现 LKB1 在多株 NSCLC 细胞系中发生突变。同时在 LKB1 基因敲除的 H157 细胞中,AMPK 活性降低,而加入外源 LKB1 蛋白可增加 AMPK 活性,提示 LKB1 可能

通过改变 AMPK 活性影响 NSCLC 的发生^[8]。故 AMPK 可成为防治肿瘤的潜在药物作用靶点。然而,AMPK 具体的抗肿瘤机制仍旧不太清楚,需要进一步的科学研究证实。

6 总结展望

腺苷酸活化的蛋白激酶 (AMPK) 即 AMP 依赖的蛋白激酶, 是一种真核细胞中高度保守的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶, 是细胞重要的能量感受器和调节器, 同时也是生物能量代谢调节的关键分子。活化的 AMPK 增强分解代谢, 抑制合成代谢, 提高机体 ATP 水平, 应对各种能量应激, 是研究糖尿病及其他代谢相关疾病的核心。同时活化的 AMPK 调节细胞的多种生物学功能, 其在肿瘤的研究中愈发显示出重要性。越来越多的研究表明, 活化 AMPK 通路有肿瘤的抑制作用。随着对 AMPK 的研究深入, 相信会开拓出肥胖, 糖尿病, 肿瘤等疾病的防治新视野, 新策略。

参考文献(References)

- [1] Beg ZH, Allmann DW, Gibson DM. Modulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme: a reductase activity with cAMP and with protein fractions of rat liver cytosol [J]. Biochem Biophys Res Comm, 1973, 54: 1362-1369
- [2] Carlson CA, Kim KH. Regulation of hepatic acetyl coenzyme A carboxylase by phosphorylation and dephosphorylation [J]. J Biol Chem, 1973, 248: 378-380
- [3] Sim A T, Hardie D G. The low activity of acetyl-CoA carboxylase in basal and glucagon-stimulated hepatocytes is due to phosphorylation by the AMP-activated protein kinase and not cyclic AMP-dependent protein kinase[J]. FEBS Lett, 1988, 233(2): 294-298
- [4] Hardie D G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(10): 774-785
- [5] Stein S C, Woods A, Jones N A, et al. The regulation of AMP-activated protein kinase by phosphorylation[J]. Biochem J, 2000, 345 (Pt 3): 437-443
- [6] Xiao B, Heath R, Saiu P, et al. Structural basis for AMP binding to mammalian AMP-activated protein kinase[J]. Nature, 2007, 449(7161): 496-500
- [7] Chen L, Jiao Z H, Zheng L S, et al. Structural insight into the autoinhibition mechanism of AMP-activated protein kinase [J]. Nature, 2009, 459(7250): 1146-1149
- [8] McBride A, Ghilagaber S, Nikolaev A, et al. The glycogen-binding domain on the AMPK beta subunit allows the kinase to act as a glycogen sensor[J]. Cell Metab, 2009, 9(1): 23-34
- [9] Scott J W, van Denderen B J, Jorgensen S B, et al. Thienopyridone drugs are selective activators of AMP-activated protein kinase beta1-containing complexes[J]. Chem Biol, 2008, 15(11): 1220-1230
- [10] Xiao B, Sanders M J, Underwood E, et al. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP [J]. Nature, 2011, 472 (7342): 230-233
- [11] Zhu L, Chen L, Zhou X M, et al. Structural insights into the architecture and allostery of full-length AMP-activated protein kinase [J]. Structure, 2011, 19(4): 515-522
- [12] Carling D, Sanders M J, Woods A. The regulation of AMP-activated protein kinase by upstream kinases [J]. Int J Obes (Lond), 2008, 32 Suppl 4: S55-S59
- [13] Momcilovic M, Hong S P, Carlson M. Mammalian TAK1 activates Snf1 protein kinase in yeast and phosphorylates AMP-activated protein kinase in vitro[J]. J Biol Chem, 2006, 281(35): 25336-25343
- [14] Sanders M J, Grondin P O, Hegarty B D, et al. Investigating the mechanism for AMP activation of the AMP-activated protein kinase cascade[J]. Biochem J, 2007, 403(1): 139-148
- [15] Suter M, Riek U, Tuerk R, et al. Dissecting the role of 5'-AMP for allosteric stimulation, activation, and deactivation of AMP-activated protein kinase[J]. J Biol Chem, 2006, 281(43): 32207-32216
- [16] Oakhill J S, Chen Z P, Scott J W, et al. beta-Subunit myristoylation is the gatekeeper for initiating metabolic stress sensing by AMP-activated protein kinase (AMPK)[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(45): 19237-19241
- [17] Oakhill J S, Steel R, Chen Z P, et al. AMPK is a direct adenylate charge-regulated protein kinase[J]. Science, 2011, 332(6036): 1433-1435
- [18] Inoki K, Li Y, Xu T, et al. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling [J]. Genes Dev, 2003, 17 (15): 1829-1834
- [19] Inoki K, Zhu T, Guan K L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival[J]. Cell, 2003, 115(5): 577-590
- [20] Ma X M, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(5): 307-318
- [21] Thoreen C C, Chantranupong L, Keys H R, et al. A unifying model for mTORC1-mediated regulation of mRNA translation [J]. Nature, 2012, 485(7396): 109-113
- [22] Mirouse V, Swick L L, Kazgan N, et al. LKB1 and AMPK maintain epithelial cell polarity under energetic stress[J]. J Cell Biol, 2007, 177 (3): 387-392
- [23] Lee J H, Koh H, Kim M, et al. Energy-dependent regulation of cell structure by AMP-activated protein kinase [J]. Nature, 2007, 447 (7147): 1017-1020
- [24] Canman C E, Lim D S, Cimprich K A, et al. Activation of the ATM kinase by ionizing radiation and phosphorylation of p53 [J]. Science, 1998, 281(5383): 1677-1679
- [25] Jones R G, Plas D R, Kubek S, et al. AMP-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint[J]. Mol Cell, 2005, 18 (3): 283-293
- [26] Liang J, Shao S H, Xu Z X, et al. The energy sensing LKB1-AMPK pathway regulates p27 (kip1) phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9(2): 218-224
- [27] Meley D, Bauvy C, Houben-Weerts J H, et al. AMP-activated protein kinase and the regulation of autophagic proteolysis [J]. J Biol Chem, 2006, 281(46): 34870-34879
- [28] He C, Klionsky D J. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy[J]. Annu Rev Genet, 2009, 43: 67-93
- [29] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. Cell, 2011, 147(4): 728-741
- [30] Egan D F, Shackelford D B, Mihaylova M M, et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy[J]. Science, 2011, 331(6016): 456-461

- [31] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132-141
- [32] Terai K, Hiramoto Y, Masaki M, et al. AMP-activated protein kinase protects cardiomyocytes against hypoxic injury through attenuation of endoplasmic reticulum stress[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(21): 9554-9575
- [33] Jager S, Handschin C, St-Pierre J, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(29): 12017-12022
- [34] Cunningham J T, Rodgers J T, Arlow D H, et al. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1-PGC-1 α transcriptional complex[J]. *Nature*, 2007, 450(7170): 736-740
- [35] Sukhodub A, Jovanovic S, Du Q, et al. AMP-activated protein kinase mediates preconditioning in cardiomyocytes by regulating activity and trafficking of sarcolemmal ATP-sensitive K(+) channels[J]. *J Cell Physiol*, 2007, 210(1): 224-236
- [36] Li J, Hu X, Selvakumar P, et al. Role of the nitric oxide pathway in AMPK-mediated glucose uptake and GLUT4 translocation in heart muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 287(5): E834-E841
- [37] Li J, Miller E J, Ninomiya-Tsuji J, et al. AMP-activated protein kinase activates p38 mitogen-activated protein kinase by increasing recruitment of p38 MAPK to TAB1 in the ischemic heart[J]. *Circ Res*, 2005, 97(9): 872-879
- [38] Russell R R, Li J, Coven D L, et al. AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(4): 495-503
- [39] Xing Y, Musi N, Fujii N, et al. Glucose metabolism and energy homeostasis in mouse hearts overexpressing dominant negative α 2 subunit of AMP-activated protein kinase [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(31): 28372-28377
- [40] Goodyear L J, Kahn B B. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity[J]. *Annu Rev Med*, 1998, 49: 235-261
- [41] Hayashi T, Wojtaszewski J F, Goodyear L J. Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(6 Pt 1): E1039-E1051
- [42] Huang S, Czech M P. The GLUT4 glucose transporter[J]. *Cell Metab*, 2007, 5(4): 237-252
- [43] Wojtaszewski J F, Higaki Y, Hirshman M F, et al. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle- specific insulin receptor knockout mice [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(9): 1257-1264
- [44] Lee A D, Hansen P A, Holloszy J O. Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle[J]. *FEBS Lett*, 1995, 361(1): 51-54
- [45] Yeh J I, Gulve E A, Rameh L, et al. The effects of wortmannin on rat skeletal muscle. Dissociation of signaling pathways for insulin- and contraction-activated hexose transport[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(5): 2107-2111
- [46] Sano H, Kane S, Sano E, et al. Insulin-stimulated phosphorylation of a Rab GTPase-activating protein regulates GLUT4 translocation[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(17): 14599-14602
- [47] Kramer H F, Witczak C A, Fujii N, et al. Distinct signals regulate AS160 phosphorylation in response to insulin, AICAR, and contraction in mouse skeletal muscle[J]. *Diabetes*, 2006, 55(7): 2067-2076
- [48] Treebak J T, Glund S, Deshmukh A, et al. AMPK-mediated AS160 phosphorylation in skeletal muscle is dependent on AMPK catalytic and regulatory subunits[J]. *Diabetes*, 2006, 55(7): 2051-2058
- [49] Taylor E B, An D, Kramer H F, et al. Discovery of TBC1D1 as an insulin-, AICAR-, and contraction-stimulated signaling nexus in mouse skeletal muscle[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(15): 9787-9796
- [50] Chen S, Murphy J, Toth R, et al. Complementary regulation of TBC1D1 and AS160 by growth factors, insulin and AMPK activators [J]. *Biochem J*, 2008, 409(2): 449-459
- [51] Kramer H F, Witczak C A, Taylor E B, et al. AS160 regulates insulin- and contraction-stimulated glucose uptake in mouse skeletal muscle [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(42): 31478-31485
- [52] Marsin A S, Bertrand L, Rider M H, et al. Phosphorylation and activation of heart PFK-2 by AMPK has a role in the stimulation of glycolysis during ischaemia[J]. *Curr Biol*, 2000, 10(20): 1247-1255
- [53] Jorgensen S B, Nielsen J N, Birk J B, et al. The α 2-5'AMP-activated protein kinase is a site 2 glycogen synthase kinase in skeletal muscle and is responsive to glucose loading [J]. *Diabetes*, 2004, 53(12): 3074-3081
- [54] Carling D, Hardie D G. The substrate and sequence specificity of the AMP-activated protein kinase. Phosphorylation of glycogen synthase and phosphorylase kinase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1989, 1012(1): 81-86
- [55] Luiken J J, Coort S L, Willems J, et al. Contraction-induced fatty acid translocase/CD36 translocation in rat cardiac myocytes is mediated through AMP-activated protein kinase signaling [J]. *Diabetes*, 2003, 52(7): 1627-1634
- [56] An D, Pulinilkunnil T, Qi D, et al. The metabolic "switch" AMPK regulates cardiac heparin-releasable lipoprotein lipase [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 288(1): E246-E253
- [57] Augustus A S, Buchanan J, Park T S, et al. Loss of lipoprotein lipase-derived fatty acids leads to increased cardiac glucose metabolism and heart dysfunction [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(13): 8716-8723
- [58] Merrill G F, Kurth E J, Hardie D G, et al. AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(6 Pt 1): E1107-E1112
- [59] Kiens B. Skeletal muscle lipid metabolism in exercise and insulin resistance[J]. *Physiol Rev*, 2006, 86(1): 205-243
- [60] Garton A J, Campbell D G, Carling D, et al. Phosphorylation of bovine hormone-sensitive lipase by the AMP-activated protein kinase. A possible antilipolytic mechanism [J]. *Eur J Biochem*, 1989, 179(1): 249-254
- [61] Roepstorff C, Vistisen B, Donsmark M, et al. Regulation of hormone-sensitive lipase activity and Ser563 and Ser565 phosphorylation in human skeletal muscle during exercise [J]. *J Physiol*, 2004, 560(Pt 2): 551-562

- [62] Donsmark M, Langfort J, Holm C, et al. Contractions induce phosphorylation of the AMPK site Ser565 in hormone-sensitive lipase in muscle[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 316(3): 867-871
- [63] Davies S P, Carling D, Munday M R, et al. Diurnal rhythm of phosphorylation of rat liver acetyl-CoA carboxylase by the AMP-activated protein kinase, demonstrated using freeze-clamping. Effects of high fat diets[J]. *Eur J Biochem*, 1992, 203(3): 615-623
- [64] Li Y, Xu S, Mihaylova M M, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice [J]. *Cell Metab*, 2011, 13(4): 376-388
- [65] Sun W, Lee T S, Zhu M, et al. Statins activate AMP-activated protein kinase in vitro and in vivo[J]. *Circulation*, 2006, 114(24): 2655-2662
- [66] Browne G J, Finn S G, Proud C G. Stimulation of the AMP-activated protein kinase leads to activation of eukaryotic elongation factor 2 kinase and to its phosphorylation at a novel site, serine 398 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12220-12231
- [67] Horman S, Browne G, Krause U, et al. Activation of AMP-activated protein kinase leads to the phosphorylation of elongation factor 2 and an inhibition of protein synthesis[J]. *Curr Biol*, 2002, 12(16): 1419-1423
- [68] Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy[J]. *Cell*, 2004, 117(3):399-412
- [69] Stitt T N, Drujan D, Clarke B A, et al. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors[J]. *Mol Cell*, 2004, 14(3): 395-403
- [70] Pickart C M. Targeting of substrates to the 26S proteasome [J]. *FASEB J*, 1997, 11(13): 1055-1066
- [71] Akopian T N, Kisselev A F, Goldberg A L. Processive degradation of proteins and other catalytic properties of the proteasome from *Thermoplasma acidophilum*[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(3): 1791-1798
- [72] Kisselev A F, Akopian T N, Goldberg A L. Range of sizes of peptide products generated during degradation of different proteins by archaeal proteasomes[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(4): 1982-1989
- [73] Corradetti M N, Inoki K, Bardeesy N, et al. Regulation of the TSC pathway by LKB1: evidence of a molecular link between tuberous sclerosis complex and Peutz-Jeghers syndrome [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(13): 1533-1538
- [74] Liu J L, Mao Z, Gallick G E, et al. AMPK/TSC2/mTOR-signaling intermediates are not necessary for LKB1-mediated nuclear retention of PTEN tumor suppressor[J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13(2): 184-194
- [75] Vignot S, Faivre S, Aguirre D, et al. mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives[J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(4): 525-537
- [76] Sanchez-Cespedes M, Parrella P, Esteller M, et al. Inactivation of LKB1/STK11 is a common event in adenocarcinomas of the lung[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(13): 3659-3662
- [77] Matsumoto S, Iwakawa R, Takahashi K, et al. Prevalence and specificity of LKB1 genetic alterations in lung cancers [J]. *Oncogene*, 2007, 26(40): 5911-5918
- [78] Neshat M S, Mellinghoff I K, Tran C, et al. Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(18): 10314-10319
- [79] Liu J L, Mao Z, Gallick G E, et al. AMPK/TSC2/mTOR-signaling intermediates are not necessary for LKB1-mediated nuclear retention of PTEN tumor suppressor[J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13(2): 184-194
- [80] Han S, Roman J. Rosiglitazone suppresses human lung carcinoma cell growth through PPARgamma-dependent and PPARgamma-independent signal pathways[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(2): 430-437
- [81] Zhong D, Guo L, de Aguirre I, et al. LKB1 mutation in large cell carcinoma of the lung[J]. *Lung Cancer*, 2006, 53(3): 285-294

(上接第 6141 页)

- [15] Sun ZJ, DU SM, Yang CB. Method for determining concentration of dichlorvos in serum by gas chromatography [J]. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 2013, 31(1): 69-71
- [16] 边剑飞, 瞿海龙, 周英莲, 等. 急性敌敌畏中毒合并急性乙醇中毒患者心肌损害临床观察[J]. *职业与健康*, 2012, 28(14): 1787-1788
Bian Jian-fei, Qu Hai-long, Zhou Ying-lian, et al. Clinical observation on myocardial damage of patients with acute dichlorvos poisoning complicated with acute alcoholism [J]. *Occupation and Health*, 2012, 28(14): 1787-1788
- [17] Sunkaria A, Wani WY, Sharma DR, et al. Dichlorvos-induced cell cycle arrest and DNA damage repair activation in primary rat microglial cells[J]. *J Neurosci Res.*, 2013, 91(3): 444-452
- [18] Xin J, Qiao X, Ma Y, et al. Simultaneous separation and determination of eight organophosphorous pesticide residues in vegetables through molecularly imprinted solid-phase extraction coupled to gas chromatography[J]. *J Sep Sci.*, 2012, 35(24): 3501-3508
- [19] Sunkaria A, Wani WY, Sharma DR, et al. Dichlorvos exposure results in activation induced apoptotic cell death in primary rat microglia[J]. *Chem Res Toxicol.*, 2012, 25(8): 1762-1770
- [20] Yadav P, Jadhav SE, Kumar V. Protective efficacy of 2-PAMCl, atropine and curcumin against dichlorvos induced toxicity in rats[J]. *Interdiscip Toxicol.*, 2012, 5(1): 1-8