

文章编号: 1004-0374(2012)04-0368-06

腺苷-磷酸激活的蛋白激酶在脂类营养代谢中的研究及应用

袁国铖^{1,2}, 周凌云^{1*}, 南雪梅¹, 胡 茵¹, 崔瑞莲¹

(1 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193; 2 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070)

摘要: 腺苷-磷酸激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是公认的重要能量感受酶。其作用与多个代谢途径有关, 尤其在脂类营养代谢过程中发挥着关键的调控作用。AMPK 对脂质代谢的调控通过多个信号通路进行, 涉及到骨骼肌、肝脏、乳腺等多个组织。对 AMPK 调控脂类营养代谢机理的研究为 2 型糖尿病、脂肪肝、肥胖症、癌症等多种疾病的治疗提供了靶点, 但 AMPK 在奶牛乳腺组织的研究较少, 其在提高奶牛生产性能方面潜能巨大。

关键词: AMPK; 脂质代谢; 信号通路

中图分类号: Q555; Q591 **文献标志码:** A

The role of AMP-activated protein kinase in the lipids metabolism

YUAN Guo-Cheng^{1,2}, ZHOU Ling-Yun^{1*}, NAN Xue-Mei¹, HU Han¹, CUI Rui-Lian¹

(1 Institute of Animal Sciences, State Key Lab of Animal Nutrition, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2 College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The AMP-activated protein kinase (AMPK) is an energy sensor that regulates energy metabolism. Roles of AMPK are related to many metabolic pathways, especially in the lipids metabolism process. The regulation roles of AMPK are played via multiple signaling pathways in skeletal muscle, liver, breast and other tissues. The study of the regulation mechanism of AMPK on lipids metabolism provides diagnosed targets to type 2 diabetes, fatty liver, obesity, cancer and other diseases, and is expected to improve production performance of dairy cows and plays a greater role.

Key words: AMPK; lipid metabolism; signaling pathway

腺苷-磷酸激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是被公认的重要的能量感受酶^[1]。它对 AMP/ATP 的比值敏感, 当细胞能量不足时, AMPK 会启动一系列程序以维持细胞的能量水平 (ATP 的浓度) 和保持细胞的生存能力^[2-3] (图 1)。许多的生理、病理信号都能激活 AMPK, 包括运动、激素、缺氧等状况^[4]。目前在人、鼠及酵母中已证明 AMPK 参与糖代谢、脂代谢、蛋白质代谢、细胞生长与凋亡、心血管与衰老等多个方面的调控, 激活 AMPK 有助于缓解 2 型糖尿病, 预防肥胖症、癌症等疾病的发生。

1 AMPK介绍

AMPK 以异源三聚体的形式存在, 包括一个催

化亚基 α 和两个调节亚基 β 和 γ 。每个亚基都由多个基因编码 ($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$)。 α 亚基 N 末端有一个丝/苏氨酸激酶结构域, 其 T 环上的 Thr-172 位点能被磷酸化^[1]。当 AMP 与 γ 亚基结合后引起构象改变, α 亚基的 Thr-172 位点磷酸化, 从而激活 AMPK^[5]。AMPK 在各个组织中的表达存在差异, 其中 $\alpha 1$ 分布广泛, 而 $\alpha 2$ 主要存在于肝脏、骨骼肌和心肌^[6-7]。 $\beta 1$ 亚基主要存在于哺乳动物的

收稿日期: 2011-12-01; 修回日期: 2011-12-28

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973”项目) (2011CB100805)

*通信作者: E-mail: anya1977@263.net

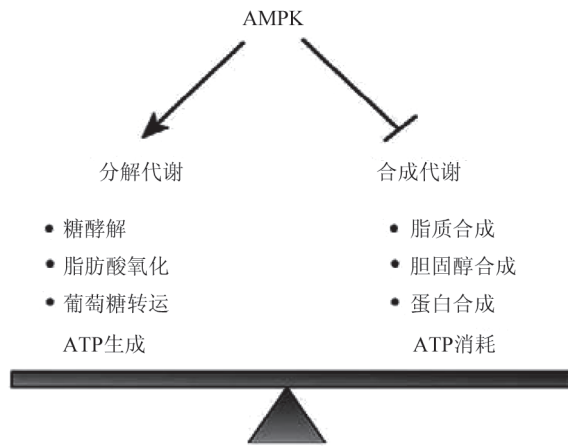


图1 激活AMPK对代谢的影响^[9]

肝脏中, 其活性占到肝脏总 AMPK 活性的 95%, $\beta 2$ 大量表达于骨骼肌和心脏中。 $\gamma 1$ 和 $\gamma 2$ 亚基在组织中广泛分布, $\gamma 3$ 亚基主要在骨骼肌中表达。骨骼肌中 AMPK 的三个亚基的表达量比其他组织要高。 $\alpha 1\beta 1\gamma 1$ 这种组合在体内广泛分布。AMPK 基因的表达也遵循选择性剪切原则, 因此, 有多种异源三聚体的组合。不同的亚基组合承受 AMP 刺激的阈值也不一样, 最终体现了 AMPK 对各个组织的差异化调控^[8]。

AMPK 这一概念首次提出时, 认为它是羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-CoA reductase, HMGR) 激酶和乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 激酶的总称^[9], 但后来发现 AMPK 的底物还有很多, 包括碳水化合物、脂类、蛋白质代谢过程中的多个关键酶、转录因子以及基因, 几乎涉及到生命活动的各个方面。动物实验已经证实, 应激状态下 AMPK 活化能促进肌细胞对葡萄糖吸收, 抑制肝脏葡萄糖输出, 进而增加细胞能量供应, 降低合成代谢能量消耗^[10]。

AMPK 的名称由来是指其能通过 AMP 变构激活, 但是上游激酶的磷酸化效应对其影响更强。该过程通过上游激酶促磷酸化及抑制蛋白激酶去磷酸化两种途径完成。AMPK 的 γ 亚基不同于其他蛋白, 拥有多个拷贝的贝特曼结构域 (bateman domains)。它的功能就是结合腺苷酸类的配体, 包括 AMP、ADP、ATP、S-腺苷酸甲硫氨酸。在细菌表达体系中, $\gamma 2$ 的贝特曼结构域 N 末端或 C 末端能够结合 AMP 或 ATP, 而且这种结构能够带来很强的正面协同效应^[11]。

2 AMPK有关脂质代谢的相关通路

2.1 AMPK的上游激酶

丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 11 (serine/threonine protein kinase 11, STK11/ LKB1)^[12-14]、钙调蛋白依赖性蛋白激酶激酶 (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase, CaMKK)^[15-17] 和转化生长因子 β 激活激酶 (transforming growth factor- β -activated kinase, TAK1)^[18] 是 AMPK 的上游激酶。

在骨骼肌中, LKB1 表现出是一个重要的 AMPK 激酶^[3]。LKB1 由 *lkb1* 基因编码, 相对分子质量为 5×10^4 , 能使 AMPK α 亚基 T 环上的 Thr-172 磷酸化。当机体能量供应不足时, LKB1 能激活 AMPK。2003 年, Woods 等^[19] 在大鼠肝脏细胞中加入抗 LKB1 的抗体, AMPK 的活性降低, 证明 LKB1 与 AMPK 具有很高的相关性。研究发现, AMPK $\alpha 2$ 为 LKB1 作用的主要底物而非 $\alpha 1$ 亚基^[20]。*lkb1* 基因敲除的小鼠, AMPK $\alpha 2$ 活性降低, 骨骼肌中甘油三酯含量升高, 肌肉收缩调控的葡萄糖转运受到抑制^[21-22], 并且导致脂肪酸氧化途径受阻^[23]。

CaMKK 受细胞内 Ca²⁺ 浓度调控来激活 AMPK, 促进物质代谢和脂肪酸氧化。在去除 AMPK 上游激酶 (包括 LKB1) 的细胞体外培养试验中, CaMKK 能够激活 AMPK^[24]。哺乳动物细胞中的 CaMKK 超表达能够提高 AMPK 的活性; 反之, 药物抑制 CaMKK 或用反义 RNA 干扰抑制 CaMKK 表达, 则使 AMPK 的活性几乎完全丧失。从大鼠的脑组织及大肠杆菌中分离得到的 CaMKK, 在体外依然可以使 AMPK 磷酸化。在酵母中, CaMKK 的表达激活了缺乏 Snf1 (sucrose non-fermenting 1) 的一个突变株, 而 Snf1 与 AMPK 是同一家族的一类激酶^[16]。在内皮细胞模型中, Ca²⁺ 浓度的变化与 CaMKK 影响着核苷酸诱导 AMPK 磷酸化, 但不依赖于 LKB1 的活性^[25]。CaMKK-AMPK 途径被认为是一条独立的调节通路。

TAK1 是丝裂原活化蛋白质激酶激酶激酶 (MAPKKK) 家族成员之一。TAK1 是 TGF- β 的激活器^[26], 参加 TGF- β 与骨形成蛋白 (BMP) 信号转导的调节过程^[27]。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 (IL-1)、细菌脂多糖 (LPS)、NF- κ B 诱导激酶 (NIK)^[28] 等激活 TAK1 后, 调控 I κ B 激酶 (IKK)^[29]、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 以及 p38MAPK (p38 mitogen activated protein kinase, P38 MAPK) 途径。2006

年, Momcilovic等^[18]在体外试验中发现, TAK1能使AMPK催化亚基的Thr-172磷酸化。

2.2 AMPK-HMGR通路

羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMG-CoA reductase, HMGR)是胆固醇合成的关键酶, 调节胆固醇代谢的平衡。AMPK作用于HMGR肽链中Ser-871位点^[30]。研究发现, 当大鼠肝细胞受热应激或亚砷酸盐^[31]或5-氨基-4-咪唑羧基酰胺核苷(AICAR)^[32]处理后, AMPK被激活, HMGR磷酸化失活, 胆固醇的合成受到显著抑制。在研究不同浓度AICAR对肝细胞HMGR活性影响时发现, 随着AICAR浓度的增加, AMPK呈剂量依赖性活化的同时HMGR呈剂量依赖性失活^[33]。绿茶和红茶提取物作用于大鼠肝癌细胞能激活AMPK, 抑制HMGR活性, 并分别降低胆固醇合成55%和78%^[34]。但是, Leclerc等^[35]认为, 激活AMPK不能完全抑制HMGR的活性, 而且HMGR对AMPK活性变化也不如乙酰辅酶A羧化酶(ACC)敏感。当AMPK活化导致ACC完全失活时, HMGR活性仅被抑制了85%^[33]。大鼠肝细胞轻度热应激(42℃)处理后, AMPK只能部分活化, 胆固醇合成不受影响; 但高度热应激(45℃)处理时, AMPK高度活化, 脂肪酸和胆固醇的合成同时受到抑制^[31]。

2.3 AMPK-ACC通路

乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)是脂肪酸生物合成中的一个关键限速酶, 其催化合成的丙二酰辅酶A(mainnly CoA)是脂肪酸合成(FAS)和脂酰链延伸系统等重要代谢反应的底物。AMPK被激活后, ACC被磷酸化后活性降低。ACC通过丙二酸单酰辅酶A(malonyl CoA)降低了肉毒碱酰基转移酶1(CPT1)的活性, 从而增加了脂肪酸的氧化^[36]。AMPK和ACC的磷酸化水平受不同浓度的葡萄糖和游离脂肪酸的抑制, 而AMPK的药理激动剂(AICAR)和球形脂联素可以促进AMPK和ACC的磷酸化, 此过程可以增强胰岛β细胞内的脂肪酸氧化水平, 降低甘油三酯的浓度, 避免其对胰岛β细胞的损伤^[37]。该途径还能影响体内瘦素含量、肌纤维的类型及预防肥胖症发生^[38]。

此外, Saha等^[39]在大鼠后腿肌肉研究中发现, AMPK还可通过激活丙二酸单酰辅酶A脱羧酶(malonyl coenzyme adecarboxylase, MCD)途径降低丙二酸单酰辅酶A的含量, 进而促进脂肪酸的氧化。大鼠运动半小时后, 肝脏、骨骼肌和脂肪组织AMPK活性显著增加, 肝脏和骨骼肌中MCD活性

提高2倍, 脂肪组织中提高75%。给大鼠皮下注射AICAR后也观察到同样现象^[40]。

2.4 AMPK-SREBP1通路

固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBPs)是一类转录因子家族。它是肝脏生脂基因表达的重要调控器, 参与调节脂肪酸、胆固醇、甘油三酯和磷脂的生物合成。SREBP有3个亚基(SREBP-1a、SREBP-1c、SREBP-2)位于内质网膜上。在不同的动物组织中, 它的功能和丰度不同^[41]。肝脏组织中的SREBPs主要是SREBP-1c^[42]。SREBP-1c优先作用于FAS(fatty acid synthase)、S14(spot 14)来调控甘油三酯合成和积累。研究证明, AMPK激活剂能使大鼠肝脏中SREBP-1 mRNA与蛋白质表达量显著下降。SREBP-1失去对FAS和S14转录调控的能力, 最终导致肝脏中脂肪酸和极低密度脂蛋白的合成受阻^[43-44]。它的机理是, AMPK能抑制SREBP-1c启动子的活性, 还能阻止SREBP-1c前体物的裂解作用^[45]。2009年, Kim等^[46]证实, 抗氧化剂三白草酮(sauchinone)激活AMPK能通过抑制肝X受体α(LXRα)参与的SREBP-1c转录, 对生脂基因转录水平负调控。

2.5 AMPK-HSL通路

激素敏感酯酶(hormone-sensitive lipase, HSL)是脂肪酸代谢的关键酶, 其在多种组织中都有表达。HSL是一种相对分子质量为 8.4×10^4 的蛋白质, 催化甘油三酯、胆固醇脂、维甲酸和类固醇脂等脂类的水解反应。HSL受β肾上腺素调控, 与骨骼肌收缩、能量流动相关。近些年研究证实, AMPK通过对HSL的磷酸化而抑制脂肪降解^[32]。由于AMPK使其Ser-565位点磷酸化后抑制蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)对HSL Ser-563位点的作用, 进而抑制脂肪降解。Watt等^[47]对8名男子做了测试, 受试者分成两个实验组, 肌糖原水平分为高低两个水平, 在70%的耗氧峰值(VO_2 peak)条件下持续运动60 min后, 对其肺功能、血浆中的代谢物和激素、肌肉代谢物、HSL活性、磷酸甘油脱氢酶的活性、AMPK活性等指标分析后得出, 人类骨骼肌运动后激活AMPKα2, 能阻止血浆肾上腺激素增加对HSL的激活作用。

3 AMPK在脂类营养代谢中的研究进展

3.1 AMPK在人类医学领域的作用

AMPK的研究主要集中在人类医学, 只因其在众多物质、能量代谢过程中具有强大的调控作用,

并与糖尿病、肿瘤、代谢紊乱疾病密切相关。人们希望寻找到某种效果好、副作用小的 AMPK 激活剂来人为地调控新陈代谢, 为预防和治疗多种代谢疾病提供了有力的靶位点。

在糖尿病治疗领域。现在已经发现的 AICAR 和二甲双胍均可以激活 AMPK, 通过诱导葡萄糖转运蛋白 4 (glucose transporter 4, GLUT4) 的转移和表达, 促进周缘组织的葡萄糖摄取。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 在调控肝脏葡萄糖代谢中起到关键的作用。AMPK 的活化能够使 mTOR 磷酸化, 从而调控下游靶基因, 增加葡萄糖的转运, 减少葡萄糖生成, 改善胰岛素抵抗。同时, 还有调脂和降低体重的作用, 因而, 目前将二甲双胍列为肥胖的 2 型糖尿病患者的首选药物。

在肿瘤治疗领域。AMPK 通过调控能量平衡, 一方面抑制能量消耗环节, 另一方面促进能量的产生环节。肿瘤细胞在不断增殖的过程中需要大量的能量供应, 而 AMPK 抑制了肿瘤细胞的能量需要。AMPK 还可以通过抑制 mTOR 通路, 降低蛋白质的合成, 从而限制肿瘤细胞的物质和能量供应。利用一定手段对肿瘤细胞进行定位的 AMPK 激活成为了癌症治疗的新思路。最近临床资料表明, 患者服用二甲双胍治疗糖尿病的同时可降低某些恶性肿瘤的发病率和死亡率, 包括前列腺癌和乳腺癌^[49-53], 其作用机理可能与二甲双胍激活 AMPK 后抑制了 mTOR 的活性有关。

在脂质代谢紊乱类疾病领域, 全球日益多发的高脂蛋白血症、肥胖症、非酒精性脂肪肝等脂代谢疾病普遍被认为是心脑血管类疾病的诱因。AMPK 能通过上节叙述的几个信号通路, 降低脂肪酸、胆固醇的合成代谢, 同时增加分解代谢。在预防和治疗脂质代谢紊乱类疾病时, 对 AMPK 的活性调节尤为关键。二甲双胍还能促进脂质代谢, 减少患脂肪肝的风险。它能够使 AMPK 磷酸化, 促进脂肪酸的氧化, 促进骨骼肌中葡萄糖的摄取^[48]。目前二甲双胍作为药物被用来治疗多种代谢紊乱性疾病^[44]。

3.2 AMPK在畜牧业中的作用

AMPK 在畜禽动物营养领域越来越受到关注。通过饲料中添加 AMPK 激动剂或抑制剂有望调控动物机体脂代谢水平, 从而提高畜牧业的生产水平。

高胆固醇血症能引起动脉硬化, 并诱发心脑血管疾病, 低胆固醇型鸡蛋备受市场推崇。陈晓春和陈代文^[54]在产蛋鸡肝细胞培养基中添加 AICAR 和

二甲双胍激活 AMPK, 抑制了 HMGR、ACC 的活性, 降低了产蛋鸡脂肪和胆固醇的合成, 提高了产蛋鸡生产性能。郑萍和陈代文^[55]发现热应激能激活仔猪肝细胞 AMPK 活性, 促进脂质分解代谢, 抑制脂质合成代谢。余冰^[56]也证实, AMPK 活性变化能介导仔猪肝细胞脂质代谢的改变。

国外关于 AMPK 研究应用到畜牧业生产的报道还很少。Underwood 等^[57]发现, AMPK 的活性与肉牛背长肌中脂肪含量成负相关。2009 年, McFadden 和 Corl^[58]以 MAC-T (牛乳腺细胞系) 为基础建立了一个奶牛乳腺组织的体外模型。证明了 AICAR 能够降低 MAC-T 的脂肪酸的从头合成。研究证明, 乳腺组织和 MAC-T^[59]中缺乏 AMPK γ 3 亚基, 且检测不到 α 2 亚基的存在。McFadden 和 Corl^[58]还首次在 MAC-T 中检测到了 LKB1 和 CaMKK。他们利用离子霉素 (一种钙离子载体) 处理 MAC-T, 结果导致 ACC 的磷酸化水平显著提高; 相反, 抑制 CaMKK 则能彻底逆转 AMPK 磷酸化。由此证明牛乳腺细胞中, 离子霉素能通过 CaMKK 激活 AMPK 抑制 ACC 活性。Zhang 等^[60]研究证实 AMPK 的活性调控同样在奶山羊的乳腺上皮细胞营养代谢中发挥重要作用。

4 展望

目前已明确 AMPK 在肝脏、骨骼肌中调控能量与物质代谢方面的作用; 但乳腺组织中 AMPK 的机理研究较少, 尤其在奶牛乳腺组织中, 因其有别于肝脏组织, 可能在物质代谢方面有着不同的调控方式——乳腺利用乙酸作为主要的能源, 而且乳汁的合成是个耗能的过程。能源供应不足可能会通过 AMPK 导致 ACC 磷酸化失活, 从而抑制脂肪酸的合成, 影响乳品质。可以考虑通过调控 AMPK 的活性, 揭示乳脂、乳蛋白的合成机理, 从而最终提高奶牛生产性能。

[参 考 文 献]

- [1] Hardie DG, Carling D, Carlson M. The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 821-55
- [2] Jones RG, Plas DR, Kubek S, et al. AMP-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint. *Mol Cell*, 2005, 18(3): 283-93
- [3] Koh HJ, Brandauer J, Goodyear LJ. LKB1 and AMPK and the regulation of skeletal muscle metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008, 11(3): 227-32
- [4] Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases:

- conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(10): 774-85
- [5] Sanders MJ, Grondin PO, Hegarty BD, et al. Investigating the mechanism for AMP activation of the AMP-activated protein kinase cascade. *Biochem J*, 2007, 403(1): 139-48
- [6] Stapleton D, Mitchelhill KI, Gao G, et al. Mammalian AMP-activated protein kinase subfamily. *J Biol Chem*, 1996, 271(2): 611-4
- [7] Verhoeven AJ, Woods A, Brennan CH, et al. The AMP-activated protein kinase gene is highly expressed in rat skeletal muscle. Alternative splicing and tissue distribution of the mRNA. *Eur J Biochem*, 1995, 228(2): 236-43
- [8] Hardie DG, Sakamoto K. AMPK: A key sensor of fuel and energy status in skeletal muscle. *Physiology*, 2006, 21: 48-60
- [9] Munday MR, Carling D, Hardie DG. Negative interactions between phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase by the cyclic AMP-dependent and AMP-activated protein kinases. *FEBS Lett*, 1988, 235(1-2): 144-8
- [10] Bergeron R, Russell RR, Young LH, et al. Effect of AMPK activation on muscle glucose metabolism in conscious rats. *Am J Physiol*, 1999, 276(5): 938-44
- [11] Scott JW, Hawley SA, Green KA, et al. CBS domains form energy-sensing modules whose binding of adenosine ligands is disrupted by disease mutations. *J Clin Invest*, 2004, 113(2): 274-84
- [12] Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, et al. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD α/β and MO25 α/β are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol Chem*, 2003, 278(4): 28
- [13] Hong SP, Leiper FC, Woods A, et al. Activation of yeast Snf1 and mammalian AMP-activated protein kinase by upstream kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(15): 8839-43
- [14] Shaw RJ, Bardeesy N, Manning BD, et al. The LKB1 tumor suppressor negatively regulates mTOR signaling. *Cancer Cell*, 2004, 6(1): 91-9
- [15] Hawley SA, Pan DA, Mustard KJ, et al. Calmodulin-dependent protein kinase kinase- β is an alternative upstream kinase for AMP-activated protein kinase. *Cell Metab*, 2005, 2(1): 9-19
- [16] Hurley RL, Anderson KA, Franzoni JM, et al. The Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinases are AMP-activated protein kinase kinases. *J Biol Chem*, 2005, 280(32): 29060-6
- [17] Woods A, Dickerson K, Heath R, et al. Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase- β acts upstream of AMP-activated protein kinase in mammalian cells. *Cell Metab*, 2005, 2(1): 21-33
- [18] Momcilovic M, Hong SP, Carlson M. Mammalian TAK1 activates Snf1 protein kinase in yeast and phosphorylates AMP-activated protein kinase *in vitro*. *J Biol Chem*, 2006, 281(35): 25336-43
- [19] Woods A, Johnstone SR, Dickerson K, et al. LKB1 is the upstream kinase in the AMP-activated protein kinase cascade. *Curr Biol*, 2003, 13(22): 2004-8
- [20] Imai K, Inukai K, Ikegami Y, et al. LKB1, an upstream AMPK kinase, regulates glucose and lipid metabolism in cultured liver and muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(3): 595-601
- [21] Koh HJ, Arnolds DE, Fujii N, et al. Skeletal muscle-selective knockout of LKB1 increases insulin sensitivity, improves glucose homeostasis, and decreases TRB3. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(22): 8217-27
- [22] Sakamoto K, McCarthy A, Smith D, et al. Deficiency of LKB1 in skeletal muscle prevents AMPK activation and glucose uptake during contraction. *EMBO J*, 2005, 24(10): 1810-20
- [23] Thomson DM, Brown JD, Fillmore N, et al. LKB1 and the regulation of malonyl-CoA and fatty acid oxidation in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293(6): E1572-9
- [24] Hong SP, Momcilovic M, Carlson M. Function of mammalian LKB1 and Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase α as Snf1-activating kinases in yeast. *J Biol Chem*, 2005, 280(23): 21804-9
- [25] da Silva CG, Jarzyna R, Specht A, et al. Extracellular nucleotides and adenosine independently activate AMP-activated protein kinase in endothelial cells: involvement of P2 receptors and adenosine transporters. *Cir Res*, 2006, 98(5): e39-47
- [26] Yamaguchi K, Shirakabe K, Shibuya H, et al. Identification of a member of the MAPKKK family as a potential mediator of TGF- β signal transduction. *Science*, 1995, 270(5244): 2008-11
- [27] Shibuya H, Iwata H, Masuyama N, et al. Role of TAK1 and TAB1 in BMP signaling in early *Xenopus* development. *EMBO J*, 1998, 17(4): 1019-28
- [28] Ninomiya-Tsuji J, Kishimoto K, Hiyama A, et al. The kinase TAK1 can activate the NIK-I κB as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signalling pathway. *Nature*, 1999, 398(6724): 252-6
- [29] Wang C, Deng L, Hong M, et al. TAK1 is a ubiquitin-dependent kinase of MKK and IKK. *Nature*, 2001, 412(6844): 346-51
- [30] Gillespie JG, Hardie DG. Phosphorylation and inactivation of HMG-CoA reductase at the AMP-activated protein kinase site in response to fructose treatment of isolated rat hepatocytes. *FEBS Lett*, 1992, 306(1): 59-62
- [31] Corton JM, Gillespie JG, Hardie DG. Role of the AMP-activated protein kinase in the cellular stress response. *Curr Biol*, 1994, 4(4): 315-24
- [32] Corton JM, Gillespie JG, Hawley SA, et al. 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside A specific method for activating AMP-activated protein kinase in intact cells. *Eur J Biochem*, 1995, 229(2): 558-65
- [33] Henin N, Vincent MF, Gruber HE, et al. Inhibition of fatty acid and cholesterol synthesis by stimulation of AMP-activated protein kinase. *FASEB J*, 1995, 9(7): 541-6
- [34] Singh DK, Banerjee S, Porter TD. Green and black tea extracts inhibit HMG-CoA reductase and activate AMP kinase to decrease cholesterol synthesis in hepatoma cells. *J Nutr Biochem*, 2009, 20(10): 816-22
- [35] Leclerc I, Kahn A, Doiron B. The 5'-AMP-activated

- protein kinase inhibits the transcriptional stimulation by glucose in liver cells, acting through the glucose response complex. *FEBS Lett*, 1998, 431(2): 180-4
- [36] Kim MK, Kim SH, Yu HS, et al. The effect of clozapine on the AMPK-ACC-CPT1 pathway in the rat frontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2011: 1-11
- [37] Tong Y, Huang DS, Bryer-Ash M. Effects of globular adiponectin, glucose and free fatty acid on AMPK and ACC phosphorylation in INS-1 β cells. *J Peking Univ : Health Sci*, 2006, 38(6): 609-13
- [38] Janovska A, Hatzinikolas G, Staikopoulos V, et al. AMPK and ACC phosphorylation: effect of leptin, muscle fibre type and obesity. *Mol Cell Endocrinol*, 2008, 284(1-2): 1-10
- [39] Saha AK, Schwarsin AJ, Roduit R, et al. Activation of malonyl-CoA decarboxylase in rat skeletal muscle by contraction and the AMP-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside. *J Biol Chem*, 2000, 275(32): 24279-83
- [40] Park H, Kaushik VK, Constant S, et al. Coordinate regulation of malonyl-CoA decarboxylase, sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase, and acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated protein kinase in rat tissues in response to exercise. *J Biol Chem*, 2002, 277(36): 32571-7
- [41] Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*, 1997, 89(3): 331-40
- [42] Shimomura I, Shimano H, Horton JD, et al. Differential expression of exons 1a and 1c in mRNAs for sterol regulatory element binding protein-1 in human and mouse organs and cultured cells. *J Clin Invest*, 1997, 99(5): 838-45
- [43] Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, et al. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice. *Nat Med*, 2000, 6(9): 998-1003
- [44] Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*, 2001, 108(8): 1167-74
- [45] Yang J, Craddock L, Hong S, et al. AMP-activated protein kinase suppresses LXR-dependent sterol regulatory element-binding protein-1c transcription in rat hepatoma McA-RH7777 cells. *J Cell Biochem*, 2009, 106(3): 414-26
- [46] Kim YW, Kim YM, Yang YM, et al. Inhibition of SREBP-1c-mediated hepatic steatosis and oxidative stress by sauchinone, an AMPK-activating lignan in *Saururus chinensis*. *Free Radic Biol Med*, 2009, 48(4): 567-78
- [47] Watt MJ, Steinberg GR, Chan S, et al. β -adrenergic stimulation of skeletal muscle HSL can be overridden by AMPK signaling. *FASEB J*, 2004, 18(12): 1445-6
- [48] Ouyang J, Parakhia RA, Ochs RS. Metformin activates AMP kinase through inhibition of AMP deaminase. *J Biol Chem*, 2011, 286(1): 1-11
- [49] Bodmer M, Meier C, Krahenbuhl S, et al. Long-term metformin use is associated with decreased risk of breast cancer. *Diabetes Care*, 2010, 33(6): 1304-8
- [50] Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, et al. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BM J*, 2005, 330(7503): 1304-5
- [51] Li D, Yeung SC, Hassan MM, et al. Antidiabetic therapies affect risk of pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2009, 137(2): 482-8
- [52] Libby G, Donnelly LA, Donnan PT, et al. New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2009, 32(9): 1620-5
- [53] Wright JL, Stanford JL. Metformin use and prostate cancer in Caucasian men: results from a population-based case-control study. *Cancer Causes Control*, 2009, 20(9): 1617-22
- [54] 陈晓春, 陈代文. AICAR和二甲双胍对产蛋鸡肝细胞AMPK活性及脂质代谢的影响. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(8): 769-73
- [55] 郑萍, 陈代文. 热应激对体外仔猪肝细胞AMPK活性及脂质代谢产物的影响. *营养学报*, 2007, 29(1): 23-6
- [56] 余冰. AMPK对应激状态下仔猪脂质代谢的调节作用[D]. 雅安: 四川农业大学, 2003
- [57] Underwood KR, Means WJ, Zhu MJ, et al. AMP-activated protein kinase is negatively associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of beef cattle. *Meat Sci*, 2008, 79: 394-402
- [58] McFadden JW, Corl BA. Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) inhibits fatty acid synthesis in bovine mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390(3): 388-93
- [59] Huynh HT, Robitaille G, Turner JD. Establishment of bovine mammary epithelial cells (MAC-T): an *in vitro* model for bovine lactation. *Exp Cell Res*, 1991, 197(2): 191-9
- [60] Zhang N, Li QZ, Gao XJ, et al. Potential role of adenosine monophosphate-activated protein kinase in regulation of energy metabolism in dairy goat mammary epithelial cells. *J Dairy Sci*, 2011, 94: 218-22