DOI: 10.13376/j.cbls/2022073

文章编号：1004-0374(2022)06-0631-13

AMPK——运动调控骨骼肌糖脂代谢的重要激酶

沈文清[1]*，何　标[1]，丁树哲[2]*

(1 安徽师范大学体育学院，生理生化检测与运动康复重点实验室，芜湖 241003；
2 华东师范大学体育与健康学院，“青少年健康评价与运动干预”教育部重点实验室，上海 200241)

摘　要：AMPK (5′AMP-activated protein kinase) 是 AMP 激活的，由催化亚基 α (α1/α2)、调节亚基 β (β1/β2) 和 γ (γ1/γ2/γ3) 构成的异源三聚体蛋白激酶。营养物质缺乏 (无糖或低氧)、二甲双胍、AMPK 激活剂 AICAR 和运动皆能激活骨骼肌 AMPK，而 AMPK 主要促进骨骼肌分解代谢，抑制其合成代谢。其中，运动主要通过上调骨骼肌 [AMP]/[ATP] 或 [ADP]/[ATP] 比率促进 AMPKα Thr172 位点磷酸化，从而激活骨骼肌 AMPK 介导的糖脂代谢信号通路，包括 AMPK/TBC1D1/TBC1D4 信号通路调控的 GLUT4 转位以促进葡萄糖摄取，以及 AMPK/ACC (乙酰辅酶 A 羧化酶) 信号通路结合线粒体蛋白转移酶 CPT1/2 和脂肪酸转运蛋白 FAT/CD36、FABPpm 和 FATP1/4 共同促进的骨骼肌脂肪酸氧化。为突出 AMPK 调控运动中骨骼肌糖脂代谢的重要性，本文分别阐述了运动对骨骼肌 AMPK 的调控作用，运动在骨骼肌 AMPK 介导糖、脂代谢中的调控作用。深度理解运动过程中 AMPK 调控骨骼肌糖脂代谢的细胞分子机制有助于将 AMPK 开发成治疗代谢类疾病的潜在有效靶向因子。

关键词：AMPK；运动；骨骼肌；糖脂代谢

中图分类号：G804.2；Q493　　**文献标志码：**A

AMPK is an important kinase regulating exercise-induced glucose and fat metabolism in skeletal muscle

SHEN Wen-Qing[1]*, HE Biao[1], DING Shu-Zhe[2]*

(1 Key Laboratory of Physiological and Biochemical Testing and Exercise Rehabilitation, School of Physical Education, Anhui Normal University, Wuhu 241003, China; 2 Key Laboratory of “Adolescent Health Assessment and Exercise Intervention” of Ministry of Education, School of Physical Education and Health, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract: AMPK (5′AMP-activated protein kinase) is a heterotrimeric complex composed of catalytic α (α1/α2) subunit, regulatory β (β1/β2) and γ (γ1/γ2/γ3) subunits. Nutrient starvation (no glucose and/or hypoxia), metformin and AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide1-β-D-ribofuranoside) and exercise can activate AMPK, which promotes catabolism and inhibits anabolism in skeletal muscle. Exercise-induced elevation of [AMP]/[ATP] or [ADP]/[ATP] increases the phosphorylation of AMPKα Thr172, thus regulating glucose uptake through AMPK/TBC1D1/TBC1D4 signaling pathway (promoting GLUT4 translocation to plasma membrane) and fatty acid oxidation through AMPK/ACC signaling pathway (in combination with mitochondrial proteins CPT1/2, fatty acid transporter proteins FAT/CD36, FABPpm and FATP1/4). To point out the significance of AMPK in the regulation of glucose and fat metabolism in exercised skeletal muscle, this review elucidates the regulation of exercise on AMPK in skeletal muscle, and the role of exercise in AMPK-induced glucose and fat metabolism. Therefore, understanding

收稿日期：2022-01-14；**修回日期：**2022-02-15

基金项目：安徽省教育厅高等学校自然科学研究项目(KJ2021A0096，2612133)；安徽省自然科学研究面上项目(1908085MC89)；国家自然科学基金项目(31671241)

***通信作者：**E-mail: GraceShen07@163.com (沈文清)； szding@tyxx.ecnu.edu.cn (丁树哲)

the molecular mechanisms of AMPK regulating glucose and fat metabolism in exercised skeletal muscle would accelerate AMPK as a potential and effective target molecule for treating metabolic diseases.

Key words: AMPK; exercise; skeletal muscle; glucose and fat metabolism

生命离不开运动，运动通过无氧代谢和有氧代谢调控骨骼肌的能量代谢。骨骼肌收缩是运动的先决条件，肌细胞内、外底物生成的 ATP 促进骨骼肌收缩，这些底物包括磷酸肌酸 (CP)、肌糖原、血液中的葡萄糖、乳酸和游离脂肪酸 (源于脂肪组织和肌细胞内储存的甘油三酯)。高强度短时间运动，如抗阻运动能诱导骨骼肌无氧代谢，磷酸肌酸的分解和肌糖原糖酵解生成乳酸为骨骼肌收缩提供能量；而低强度长时间运动，如耐力运动可诱导骨骼肌有氧代谢 —— 葡萄糖和脂肪有氧代谢，表现为肌糖原分解、血液中葡萄糖摄取和游离脂肪酸摄取和氧化。骨骼肌收缩离不开 ATP 生成，AMPK 调控 ATP 的合成与分解。因此，本文揭示并探讨 AMPK 如何调控运动中骨骼肌糖脂代谢及其细胞分子机制，以及运动如何诱导 AMPK 的激活从而促进骨骼肌能量代谢，为骨骼肌收缩和运动状态的维持提供充足的 ATP。AMPK 作为蛋白激酶直接感受 AMP、ADP 和 ATP 浓度变化，感应细胞能量变化。外界刺激因素如运动上调骨骼肌或肌细胞内 [AMP]/[ATP] 和 [ADP]/[ATP] 比率以激活 AMPK[1]，并且 AMPK 的激活受上游激酶 LKB1 和 CaMKK Ⅱ (钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶激酶Ⅱ) 的调控。通常，运动激活 AMPK 的形式表现为 AMPKα Thr172 (苏氨酸 172 位点) 磷酸化，而胰岛素主要通过 PKB/Akt 磷酸化 AMPKα Ser485/491 位点抑制 AMPK 的激活。

运动强度和运动量决定代谢底物的多样化，低强度长时间运动主要以骨骼肌甘油三酯为代谢底物，中等强度长时间运动主要以肌糖原、骨骼肌甘油三酯和血浆游离脂肪酸为代谢底物，高强度短时间运动以 ATP-CP 磷酸原供能系统为主，高强度长时间运动主要以肌糖原和血糖为代谢底物。骨骼肌葡萄糖的摄取和利用主要通过 GLUT4 (葡萄糖转运蛋白家族成员 4) 将葡萄糖转运至肌细胞膜内，进而氧化分解利用。研究表明运动促进肌细胞内 TBC1D1 (tre-2/USP6, BUB2, cdc16 domain family member 1，TBC1 Rab-GAP 家族蛋白成员之一) 和 TBC1D4 (AS160，分子量为 160 kDa 的 Akt 底物) 调控的 GLUT4 囊泡转位至肌膜，并且 TBC1D1 和 TBC1D4 的激活离不开 AMPK 和 Akt 信号通路的联合作用 [2]。类似地，运动促进囊泡相关膜蛋白 2 (vesicle-associated membrane protein 2, VAMP-2) 转位至肌浆网，暗示运动诱导 GLUT4 囊泡转位至肌膜的分子机制可能依赖突触囊泡和膜蛋白的运输 [3]，同时血浆或肌浆网中游离脂肪酸转运至肌细胞线粒体进行 β- 氧化。禁食和中等强度运动促进血液和骨骼肌中脂肪酸氧化，并且此过程中游离脂肪酸浓度不受脂肪酸氧化速率的影响；相反，高强度运动抑制脂解作用 (同时包括尼克酸的摄入和碳水化合物的分解)，游离脂肪酸浓度的增高下调脂肪酸氧化速率 [4]。经典的脂肪酸氧化信号通路在运动激活骨骼肌 AMPK/ACC (乙酰辅酶 A 羧化酶) 信号通路中体现 [5]。FAT (fatty acid translocase)/CD36 不仅是骨骼肌脂肪酸转运蛋白，也可能是调控 AMPK 活性的上游蛋白，能促进 AMPK/ACC 调控的骨骼肌脂肪酸氧化 [6]。尽管 AMPK 是调控运动中骨骼肌腺嘌呤核苷酸总量 (AMP、ADP 和 ATP) 动态平衡的重要激酶，但 AMPK 不一定是运动中调控骨骼肌糖脂代谢的关键因子 [7]。有趣的是，SIRT1 通过激活骨骼肌 AMPK 来调控 PGC-1α 去乙酰化过程，该过程依赖 NAD^+ 浓度的增加或 [NAD^+]/[NADH] 比率的升高，进而促进骨骼肌能量代谢 [8]，表明 SIRT1 是调控 AMPK/PGC-1α 信号通路的重要去乙酰化酶，运动上调 SIRT1 蛋白表达为骨骼肌提供更多的能量。所以，运动调控 AMPK 介导的骨骼肌糖脂代谢的信号通路仍不明确，变量的多样性和实验结果的不确定性使得不能确证 AMPK 是调控运动中骨骼肌糖脂代谢的关键激酶，需进一步研究和探索。

1 运动对骨骼肌AMPK的调控作用

不同方式的运动干预对骨骼肌 AMPK 的激活程度不同。不同强度和时间的运动干预诱导骨骼肌收缩中腺苷酸池 (AMP+ADP+ATP) 总含量下降，同时肌细胞内 [AMP]/[ATP] 和 [ADP]/[ATP] 比率升高，进而激活 AMPK[9]。但低葡萄糖水平和果糖 -1,6- 二磷酸含量的下降促进 AMPK 的激活，不依赖 [AMP] 或 [ADP] 浓度的变化 [10]。最新研究通过光活性二甲双胍探针鉴定了 PEN2 (一种 γ 分泌酶的亚基)，低剂量的二甲双胍结合 PEN2 形成复合物 ATP6AP1

(v-ATP 酶的亚基) 联合调控溶酶体 AMPK 信号通路的激活 [11]。与此同时，低剂量和高剂量的二甲双胍皆可激活 AMPK，AMPK/TET2 信号通路的激活抑制糖尿病小鼠异种移植肿瘤的生长 [12]。LKB1 是 AMPK 的上游蛋白激酶，在小鼠骨骼肌收缩和 AMPK 激活剂的共同作用下显著增加 AMPKα2 活性 [13]。相比于 AMPKα1 活性的增加，高频率短时间电刺激模拟的高强度抗阻运动更显著地增加小鼠快肌纤维趾长伸肌 (extensor digitorum longus, EDL) AMPKα2 活性 [14]。不同时长高强度的急性运动显著增加人体骨骼肌 AMPK α2β2γ1 和 α2β2γ3 复合物活性，并且 AMPK α2β2γ1 复合物活性与 TBC1D4 磷酸化显著相关，不同时长高强度运动亦激活人体骨骼肌 Akt，进一步促进 TBC1D4 磷酸化 [15]，进而调控骨骼肌糖代谢。除了细胞内 [AMP]/[ATP] 或 [ADP]/[ATP] 比率的升高、AMPK 上游激酶 LKB1、CaMKK Ⅰ / Ⅱ和 AMPK 激活剂 AICAR、二甲双胍等，固定时长高频率电刺激模拟的高强度运动亦显著增加大鼠快肌纤维 AMPKα Thr172 磷酸化和 AMPKα2 活性 [16]。值得一提的是，相比于 CaMKK Ⅰ，CaMKK Ⅱ对 AMPK 的激活作用更依赖细胞内 Ca^{2+} 浓度的增加 [17]。半小时高强度跑台运动促进大鼠骨骼肌 AMPKα 磷酸化，尤其是骨骼肌 AMPKα2 活性明显增加 [18]。人体实验亦表明类似的结果，相比于 50%VO_{2max} 中等强度运动，75%VO_{2max} 高强度运动显著增加人体骨骼肌 AMPKα2 活性，但未显著改变 AMPKα1 活性；50%VO_{2max} 中等强度运动未显著改变 AMPKα1 和 α2 活性 [19]。80%VO_{2max} 高强度运动显著增加人体骨骼肌 AMPKα Thr172 磷酸化和 AMPK α2β2γ3 复合物活性，促进 ACC2 Ser212 磷酸化 [20]。一小时高强度运动显著增加人体骨骼肌 AMPK α2β2γ1 和 α2β2γ3 复合物活性，高频率短时间电刺激模拟的高强度运动显著增加小鼠骨骼肌 α2β2γ1 和 α2β2γ3 复合物活性 [21]。60%~65% VO_{2max} 中等强度和 80%VO_{2max} 高强度运动皆显著增加人体骨骼肌 AMPKα1 和 α2 活性，尤其是激活骨骼肌 AMPKα2/ACC2 信号通路 [22-23]。这表明高强度不同时长的运动显著增加啮齿类动物和人体骨骼肌 AMPKα2 活性。

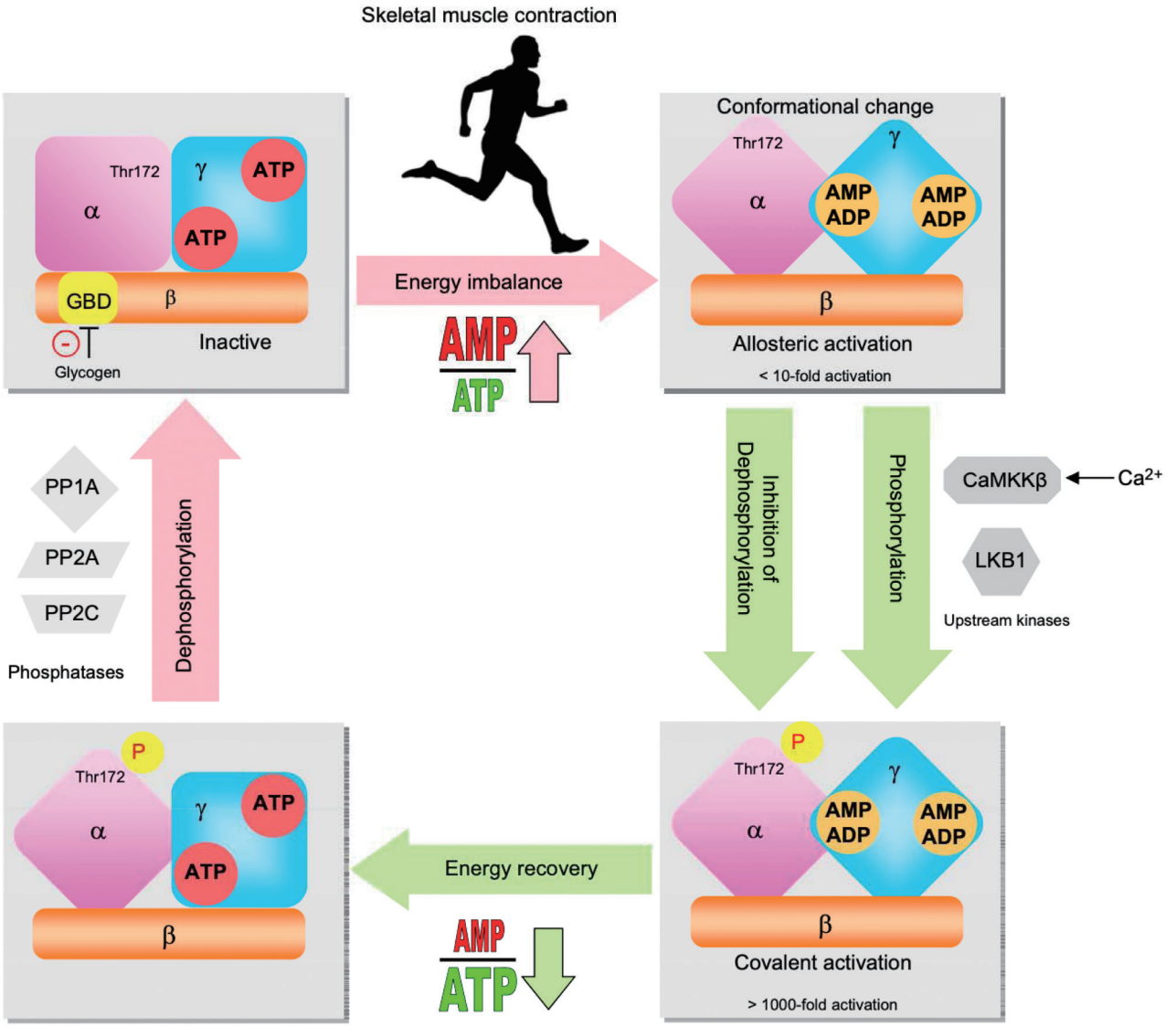
由前文可知，急性运动干预显著增加人体或啮齿类动物骨骼肌 AMPKα Thr172 磷酸化和 AMPKα1/α2 活性。然而，高强度短时间运动不能有效增加人体骨骼肌 AMPKα1/α2 活性，却一定程度上抑制 AMPK 活性的增加和 AMPK/ACC 信号通路的激活 [22, 24]。有训练基础的人体骨骼肌安静状态下 AMPKα1 和 α2 活性显著高于没有训练基础的人体骨骼肌 [25]，但中高强度运动训练显著增加人体骨骼肌 AMPKα1 蛋白表达 [24, 26]。由此推断，运动训练后增加的肌肉收缩能力维持特定状态和能量稳态，对营养物质或 ATP 缺乏的急性刺激不敏感，同时运动训练弱化急性运动对骨骼肌能量应激的刺激作用。有研究表明运动训练致使骨骼肌 AMPKγ3 蛋白表达下降 10%~60%[27-28]。急性运动上调骨骼肌 AMPK α2β2γ3 复合物活性，但长期运动训练抑制 AMPKγ3 蛋白表达。尽管缺乏基因层面的数据，仍存在骨骼肌 AMPKγ3 蛋白表达降低激活 PPARβ 信号通路的可能性，从而一定程度上促进骨骼肌脂肪酸合成 [29]。AMPK 的激活对运动诱导的骨骼肌收缩具有重要的调控作用，因 AMP 和 ADP 浓度升高，ATP 浓度降低，AMPK 上游激酶 LKB1 和 CaMKK 的作用以及蛋白磷酸酶 PP1A、PP2A 和 PP2C 的作用，使 AMPK 得以激活与失活，证明运动通过改变 AMPK 活性调控能量平衡和骨骼肌收缩 (图 1) [30]。因而，AMPK 对能量代谢的调控作用具有多样性和广泛性，调控骨骼肌线粒体氧化功能、骨骼肌完整性和基于二者之上的运动耐力。

2　AMPK对骨骼肌糖代谢的调控作用

骨骼肌是体内葡萄糖处理的主要场所。AMPK 通过促进葡萄糖转运蛋白 GLUT4 转位作用增加骨骼肌葡萄糖摄取 [31]。胰岛素增加骨骼肌 Akt 介导的 GLUT4 转位至肌细胞膜，进而促进骨骼肌葡萄糖摄取。运动或 AMPK 激活剂 AICAR 促进骨骼肌 AMPK 的激活，联用胰岛素共同提高葡萄糖摄取。在 2 型糖尿病患者中，AICAR 有效增加其骨骼肌 GLUT4 转位调控的葡萄糖转运 [32]。运动诱导葡萄糖摄取增加是通过诱导 AMPK 下游效应物磷酸化，即 TBC1D1 Ser237 位点磷酸化，进而加速 GLUT4 转位至细胞膜 [33-34]。类似的研究发现，TBC1D1 促进骨骼肌 GLUT4 转位以增加骨骼肌葡萄糖摄取和氧化，同时抑制 β- 羟酰基辅酶 A 脱氢酶 (β-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, β-HAD) 活性，抑制脂肪酸氧化 [35]。因而，AMPK 激活骨骼肌 TBC1D1 和 TBC1D4，同时 TBC1D1 和 TBC1D4 的激活促进非活性状态的 Rab GDP 转化为活性状态的 Rab GTP，从而诱导 GLUT4 转位至肌细胞膜中，调控骨骼肌糖代谢。

2.1　运动激活骨骼肌AMPK调控的糖代谢信号通路

葡萄糖主要来自于肌糖原和肝糖原的分解，运



运动诱导骨骼肌能量不平衡，导致肌细胞内AMP和ADP浓度的升高，AMP和ADP与γ亚基Bateman结构域结合导致构象变化，通过变构机制使AMPK激活超过10倍。同时该构象变化导致AMPK上游激酶LKB1促进AMPKα Thr172位点磷酸化(α亚基为催化亚基)，并抑制蛋白磷酸酶去磷酸化，进而提高AMPK活性100倍。变构效应和AMPKα Thr172磷酸化共同导致AMPK的激活高于1 000倍。同时CaMKKβ促进AMPKα Thr172磷酸化，细胞内Ca^{2+}浓度升高会亦激活AMPK。运动和能量补给后，AMPK通过蛋白磷酸酶(PP1A、PP2A和PP2C)催化的去磷酸化转化为无活性形式，糖原通过抑制β亚基GBD区域进而使AMPK失活。

图1 运动中骨骼肌收缩对AMPK活性的调控作用[30]

动或 AICAR 通过增加骨骼肌 AMPKα Thr172 磷酸化促进肌糖原分解和葡萄糖摄取。研究表明 AICAR 可显著增加 2 型糖尿病患者骨骼肌 GLUT4 转位调控的葡萄糖摄取[32]。TBC1D1 和 TBC1D4 是 Rab-GTPase 激活蛋白 (Rab-GTPase-activating proteins, GAPs)，是 AMPK 和 Akt 的磷酸化底物，协助胰岛素诱导的 Akt 激活促进 GLUT4 转位，同时骨骼肌收缩促进 AMPKα 磷酸化，诱导 TBC1D1/TBC1D4 调控的 Rab- GTPase 活化，进而促进 GLUT4 转位以增加骨骼肌葡萄糖摄取[2, 36-37]。骨骼肌收缩体外实验证实 AMPK 激活 TBC1D1，表现为显著增加 TBC1D1 Ser237 和 Ser660 位点磷酸化[21, 38-39]。急性高强度运动激活人体骨骼肌 TBC1D1 Ser237 磷酸化，主要受 AMPKα2 蛋白和 AMPK α2β2γ3 复合物活性的调控[38, 40-41]。与此同时，急性跑台运动激活小鼠骨骼肌 AMPKα Thr172、ACC Ser212 和 TBC1D1 Ser237 磷酸化，促进 GLUT4 转位至细胞膜以增加骨骼肌葡萄糖摄取[42]。然而，AMPK 和 TBC1D1 调控骨骼

肌葡萄糖摄取发生于运动后恢复阶段，而不是在运动中[43]。在高葡萄糖情况下，ROS（氧自由基）的释放抑制 Akt 调控的 AMPKα Ser485/491 磷酸化，促进 MG53 蛋白（骨骼肌富集的 E3 泛素化连接酶）募集以诱导蛋白质泛素化进而使 AMPKα 降解，同时抑制 LKB1 对 AMPKα Thr172 的磷酸化使 AMPKα 活性下降[44]。运动诱导 AMPK 激活，促进新的线粒体 AMPK 底物 AKAP1 p-S103 位点磷酸化，调控线粒体呼吸交换率，促进骨骼肌 ATP 合成[45]。这从另一角度解释了能量过剩诱导代谢类疾病中 AMPKα 降解和失活与运动诱导 AMPK 激活之间存在阴阳平衡关系，进一步揭示了 AMPK 介导的信号通路在维持细胞能量稳态中的重要性。

基于他莫昔芬诱导的骨骼肌 AMPKα1/α2 基因双敲除 (AMPKα imDKO) 小鼠模型，研究者发现 TBC1D1 是 AMPK 下游磷酸化效应物，且半小时 60%VO_{2max} 跑台运动激活骨骼肌 AMPK Thr172 和 TBC1D1 Ser237 位点磷酸化，从而促进骨骼肌葡萄糖摄取和氧化[7]。骨骼肌收缩中 AMPK/TBC1D1 信号通路的激活促进 GLUT4 调控的骨骼肌葡萄糖摄取，但未显著增加 Akt 调控的 TBC1D4 磷酸化[46]。TBC1D1 基因敲除或敲入小鼠模型的骨骼肌糖酵解受损，表现为运动或电刺激引起的骨骼肌收缩和 AICAR 刺激下的葡萄糖摄取受损，表明 AMPK/TBC1D1 信号通路对骨骼肌葡萄糖摄取有重要调控作用[47-48]。小鼠胫骨前肌 AMPK 通过磷酸化 TBC1D1 Ser237、Ser499、Ser660 和 Ser700 使其过表达，促进 GLUT4 蛋白表达和转位[39]。但电刺激和运动诱导的 TBC1D1 Ser231A KI (knock in，基因敲入) 小鼠骨骼肌收缩中葡萄糖摄取未显著下降[49-50]，可能原因是 TBC1D4 磷酸化补偿 TBC1D1 功能缺失，促进骨骼肌葡萄糖摄取。急性高强度运动促进人体骨骼肌葡萄糖摄取和显著增加 AMPK Thr172 和 TBC1D4 Ser704、Thr642 和 Ser588 位点磷酸化，而 12 周高强度运动训练抑制 AMPKα Thr172 和 TBC1D4 Thr642/Ser588 位点磷酸化，但提高骨骼肌 Akt 调控的胰岛素敏感性[51]。此外，抗阻运动有效促进人体骨骼肌 Akt 底物磷酸化，运动时骨骼肌葡萄糖摄取的增加可能归因于 Akt 底物 AS160/TBC1D4 磷酸化[52]。然而基于 AS160 Thr649Ala KI 基因敲入小鼠模型的研究发现，骨骼肌收缩或 AICAR 不能激活 TBC1D4 Thr649（也是 Thr642）磷酸化位点[53]。由此推断，激活 AS160/TBC1D4 Thr642 位点磷酸化更大程度上依赖 Akt 介导的胰岛素信号通路。综上所述，在运动或 AMPK 激活剂的作用下，AMPK 激活骨骼肌 TBC1D1，但 TBC1D4 的激活需要有胰岛素的刺激，TBC1D1 和 TBC1D4 同时作用促进 GLUT4 转位以提高骨骼肌葡萄糖的摄取和氧化；急性中等强度运动不能有效激活肥胖患者和肥胖 2 型糖尿病患者骨骼肌 AMPK 和增加 α1/α2 活性，但却上调健康受试者骨骼肌 AMPKα Thr172、PAS (phospho-Akt substrate)/AS160 和 Akt Ser473/Thr308 磷酸化水平和增加 AMPKα2 活性[54-55]，暗示肥胖和 2 型糖尿病自身抑制骨骼肌 AMPKα Thr172 磷酸化。

2.2　AMPK激活剂对骨骼肌糖代谢的调控作用

随着代谢类疾病治疗药物的快速研发，多数 AMPK 激活剂被用于治疗如肥胖、2 型糖尿病、炎症、癌症等慢性疾病，其分子机制主要是通过增加骨骼肌糖脂代谢改善组织、器官代谢紊乱和提高机体能量代谢率。除了药物对 AMPK 的激活，长期间歇性低氧刺激促进小鼠骨骼肌 AMPKα Thr172、ACC Ser79、TBC1D1 Ser237 和 PAS-160kDa (TBC1D4) 磷酸化以改善机体葡萄糖耐量[56]。研究表明 AMPK 激活剂 PF-739 通过显著增加骨骼肌 ACC2 Ser212 和 TBC1D1 Ser237 磷酸化提高其葡萄糖利用率，降低小鼠血糖水平，同时基于肌肉特异性 AMPKα1α2 双敲除小鼠，证明骨骼肌 AMPK 是 ACC2 Ser212 和 TBC1D1 Ser237 的上游激酶[57]。另一种 AMPK 激活剂 MK-8722 亦能激活哺乳动物骨骼肌 AMPK，改善 2 型糖尿病恒河猴血糖稳态，但存在一定的副作用，即可能诱导心脏肥大和心肌糖原储备增加[58]。与此同时，苯并咪唑衍生物 991 也被证明能促进肌细胞 AMPKα Thr172 磷酸化和葡萄糖摄取[59]。线粒体呼吸链复合物Ⅰ抑制剂——R419 可迅速激活肌管细胞 AMPK，同时改善肥胖小鼠运动能力和依赖 AMPK 调控的骨骼肌线粒体功能，这表明 R419 是改善机体血糖稳态和运动能力的潜在治疗手段[60]。几丁质酶 3 样蛋白 1 (chitinase-3-like protein 1, CHI3L1) 通过促进肌细胞 CaMKK Ⅱ/AMPK/TBC1D4 信号通路调控骨骼肌 GLUT4 转位，增强葡萄糖代谢[61]。相反地，SBI-0206965 是骨骼肌葡萄糖转运的非特异性抑制剂，能非特异性抑制骨骼肌 AMPK/Ulk1 信号通路[62]。另外一种变构激活剂 SC4 作为小分子 β2-AMPK 激活剂，可有效增加骨骼肌 AMPK α2β2γ1 复合物活性[63]。除了实验室常用的 AMPK 药物激活剂，临床和动物实验表明异戊内酯衍生物通过激活 AMPK 促进肌细胞 GLUT4 转位，从而调控肌细胞葡萄糖摄取，改善 db/db 小鼠血糖稳态和

提高能量代谢[64]。胡椒碱不仅促进小鼠 C2C12 肌管细胞 Ca^{2+} 和 ROS 的释放，而且通过激活骨骼肌 CaMKKβ/AMPK 信号通路促进骨骼肌 GLUT4 转位[65]。甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 是一种广泛使用的抗癌和抗风湿药，通过抑制 ATIC (5- 氨基咪唑 -4- 羧酰胺核糖核苷酸甲酰转移酶 / 肌苷单磷酸环水解酶) 活性减缓 ZMP (5- 氨基咪唑 -4- 羧酰胺 -1-β-D- 呋喃核糖基 -5'- 单磷酸) 及其前体 AICAR 代谢，还可通过结合 AICAR 诱导能量应激促使肌细胞 [AMP]/[ATP] 比率升高，因而 MTX 间接激活肌细胞 AMPK 以促进葡萄糖摄取[66]。Alisol A-24-乙酸盐 (AA-24-a) 的作用是降血糖，同时通过激活 C2C12 肌细胞 CaMKKβ-AMPK-p38 MAPK/AS160 信号通路促进骨骼肌葡萄糖摄取[67]。迷迭香提取物通过激活肌细胞 AMPK 以促进葡萄糖摄取[68-69]。中草药委陵菜通过激活 AMPK/TBC1D4 信号通路促进 L6 肌细胞 GLUT4 转位以提高葡萄糖摄取[70]。有意思的是，摄入羊奶通过激活骨骼肌 AMPK 改善高脂膳食情况下大鼠血糖水平[71]。综上所述，不同分子量大小和功效的 AMPK 激活剂可作为临床治疗代谢类疾病，如肥胖、2 型糖尿病的潜在治疗手段。

肌肉分泌因子 Irisin (鸢尾素) 激活骨骼肌 AMPK 调控的 GLUT4 转位至细胞膜，以促进葡萄糖摄取[72]。另一种肌肉分泌因子 IL-15 (白细胞介素 -15) 的过表达促进肌细胞 AMPKα Thr172、TBC1D4 Thr642 和 Ser660 位点磷酸化，从而促进 GLUT4 转位至细胞膜[73]。在体外细胞实验培养中添加 IL-15 可主要通过激活肌细胞 AMPK 促进骨骼肌葡萄糖摄取，同时改善骨骼肌线粒体氧化功能和增加线粒体电子传递链 ETC 超负荷物的形成[74]。Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate) 是 Rho 家族 GTPase，通过调控运动中骨骼肌 GLUT4 转位促进其葡萄糖摄取[75]。T 淋巴瘤侵袭转移诱导蛋白 1 (T-lymphoma invasion and metastasis-inducing protein-1, Tiam1) 调控 Rac1 活性，Rac1 活性的增加促进肌细胞 GLUT4 转位；1 h、1 Hz 电刺激诱导的 C2C12 肌细胞收缩通过激活 AMPK/Tiam1/Rac1 信号通路促进其葡萄糖摄取[76]。另一个 AMPK 调控因子 Axin1 在营养匮乏条件下结合 LKB1 激活溶酶体 AMPK，促进溶酶体感知能量变化，从而促进其葡萄糖摄取和氧化；在葡萄糖充足环境中，mTORC1 通过与 Rag 紧密结合的 Ragulator 蛋白抑制 AMPK 的激活[77]。但是，肌肉 Axin1 基因敲除不影响 AMPK/mTOR 信号通路和小鼠骨骼肌葡萄糖摄取，提示 Axin2 可能调控骨骼肌葡萄糖摄取和氧化[78]。由此可知，Irisin、IL-15、Rac1 和 Tiam1 都是骨骼肌收缩中调控 AMPK 介导的葡萄糖摄取的重要调控因子；Axin1 可能通过结合 AMPK 上游激酶 LKB1 激活溶酶体 AMPK，从而调控葡萄糖摄取相关的重要调控因子，但其功能特性有待进一步研究。

此外，不同频率和时长的电刺激模拟不同强度的骨骼肌收缩对 AMPK 介导的葡萄糖摄取具有重要的调控作用。低频率长时间电刺激模拟耐力运动激活骨骼肌 AMPK/Axin1-Rac1 信号通路，进而促进小鼠骨骼肌葡萄糖摄取[79]。相比于低频率长时间电刺激，高频率短时间电刺激模拟抗阻运动激活骨骼肌 AMPK/TBC1D1/TBC1D4 信号通路，更能促进小鼠骨骼肌葡萄糖摄取[80-81]。该过程离不开胰岛素介导的 Akt 信号通路的激活作用。

3 AMPK对骨骼肌脂代谢的调控作用

AMPK 磷酸化 ACC2 Ser212 能促进骨骼肌脂肪酸氧化，同时 ACC2 Ser212 磷酸化调控胰岛素敏感性[82]。研究证实，脯氨酰羟化酶 3 (prolyl hydroxylase 3, PHD3) 基因敲除激活小鼠骨骼肌 AMPK/ACC2 信号通路，促进骨骼肌脂肪酸氧化，从而提高小鼠耐力运动能力[83]。长时间中高强度运动激活骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路，增加骨骼肌 AMPKα2 活性。一些 AMPK 激活剂，如 MTX、SIRT6 都可通过激活骨骼肌 AMPK 促进脂肪酸氧化。同时，一些抑制因子如神经节苷脂诱导的分化相关蛋白 1 (ganglioside-induced differentiation associated protein 1, GDAP1)、黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 和硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (stearoyl-CoA desaturase, SCD1) 抑制 AMPK 活性，进而抑制骨骼肌脂肪酸氧化。除此之外，AMPK 调控因子和电刺激皆可激活骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路以促进骨骼肌脂肪酸氧化。

3.1 运动应激

研究表明，2 h 的 65%VO_{2max} 强度运动激活没有训练基础的受试者的骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路，从而促进骨骼肌脂肪酸氧化[84]。急性运动显著激活大鼠骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路，同时增加骨骼肌 AMPKγ3 亚基的活性[85]。6 周自由转轮运动训练显著增加小鼠骨骼肌 AMPKα2 活性，同时激活骨骼肌 ACC，促进小鼠骨骼肌脂肪酸摄取和氧化[86]。一方面，在跑台运动中骨骼肌 AMPKα1/α2

基因双敲除小鼠的骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路受损，导致机体脂肪酸氧化显著下降，并伴随运动中呼吸商 (respiratory exchange rate, RER) 的升高以及摄氧量水平和耐力运动能力的下降 [87]；另一方面，运动诱导骨骼肌 AMPKβ1/β2 基因双敲除小鼠脂肪酸氧化增加 [88]，提示 AMPK 不是调控运动中骨骼肌脂肪酸氧化的关键激酶。其他体外骨骼肌收缩研究亦表明，在 AMPK 基因敲除的小鼠模型中骨骼肌葡萄糖摄取未显著增加 [89] 或部分下降 [88]。这从侧面反映在体外骨骼肌收缩中 AMPK 调控脂肪酸氧化的作用不明确。因而，中高强度急性运动或耐力运动训练皆可激活人体或啮齿类动物的骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路以促进脂肪酸氧化，但 AMPK/ACC 介导的脂肪酸氧化信号通路是否在运动或骨骼肌收缩中发挥关键作用，仍有待进一步研究。同时，研究表明运动激活骨骼肌 AMPK/Ulk1 信号通路以促进骨骼肌细胞自噬 [90] 或线粒体自噬 [91]，而骨骼肌自噬水平的增加对骨骼肌质量和脂肪酸氧化都有重要的调控作用 [92]。

3.2　AMPK调控剂对骨骼肌脂代谢的调控作用

前文提及，MTX 不仅促进 AMPK 调控的骨骼肌葡萄糖摄取，同时激活 AMPK/ACC 信号通路，调控骨骼肌脂肪酸氧化 [66]。研究表明 SIRT6 激活骨骼肌 AMPK 调控的脂肪酸氧化，同时 SIRT6 调控 FAT/CD36 信号通路和 PPARα 蛋白表达促进骨骼肌线粒体中的脂肪酸 β- 氧化 [93]。乳酸作为运动中骨骼肌葡萄糖无氧氧化的代谢产物，一定程度上激活小鼠骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路，提示一定浓度的乳酸促进骨骼肌脂肪酸氧化 [94]，从而解释了机体葡萄糖不完全氧化的代谢产物对骨骼肌脂肪酸氧化的促进作用。AMPK 的激活抑制 GDAP1 活性，GDAP1 基因沉默促进肌细胞脂肪酸氧化分解，一定程度上反映 AMPK 通过抑制 GDAP1 蛋白表达促进骨骼肌脂肪酸氧化 [95]。AICAR 诱导 AMPK 的激活抑制 FAK Tyr397 位点磷酸化，通过抑制 FAK 蛋白磷酸化激活人体肌细胞 AMPK/ACC 信号通路可以促进骨骼肌脂肪酸氧化 [96]。因此，AMPK 激活剂对骨骼肌脂肪酸氧化整体起到促进的作用，而削弱 AMPK 抑制剂亦起到促进的作用。除此之外，成纤维生长因子 19 (fibroblast growth factor 19, FGF19) 通过激活骨骼肌 AMPK/PGC-1α 信号通路改善肥胖诱导的骨骼肌线粒体功能障碍和氧化应激 [97]。FGF21 亦可调控骨骼肌线粒体自噬，从而调控肌肉质量和脂代谢 [92]。SCD1 是催化单不饱和脂肪酸合成的限速酶。SCD1 基因敲除小鼠通过上调骨骼肌 [AMP]/[ATP] 比率激活 AMPK/ACC 信号通路，从而促进骨骼肌脂肪酸氧化并抑制骨骼肌游离脂肪酸、甘油二酯和甘油三酯的生成 [98]。染料木素激活肥胖受试者骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路，同时改善胰岛素敏感性和促进肠道菌群重塑 [99]。长期黄连素治疗显著增加自然衰老大鼠骨骼肌 AMPKα 磷酸化和骨骼肌 SIRT1、PGC-1α 蛋白的表达 [100]。白藜芦醇激活小鼠 C2C12 肌管细胞 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路，进而促进肌细胞由快肌纤维向慢肌纤维转变 [101]。有意思的是，在非酒精性脂肪肝疾病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 情况下，骨骼肌 miR-34a (一种促进细胞凋亡的小分子 RNAs，在肝脏和血浆中亦有表达)/SIRT1:AMPK 信号通路激活，导致正常人或 NAFLD 患者骨骼肌线粒体动力学功能障碍，暗示代谢类疾病诱导的 AMPK 激活是抑制线粒体功能和促进脂质代谢异常的导火索，同时 miR-34a/SIRT1:AMPK 信号通路可能是治疗代谢类疾病的有效靶点 [102]。FGF19、SCD1 和 miR-34a 这些小分子的 AMPK 调控因子和黄连素、白藜芦醇等化合物直接或间接促进骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路的激活，从而提高人体或啮齿类动物骨骼肌脂肪酸氧化。

与此同时，利用不同频率 (高 / 低频率)、不同时长的电刺激模拟不同方式的运动，进一步阐明运动对 AMPK 介导的骨骼肌脂肪酸氧化具有重要的调控作用。低频率长时间和高频率短时间电刺激都能激活小鼠骨骼肌 AMPK/ACC 信号通路，进而促进小鼠骨骼肌脂肪酸氧化，同时显著增加 FABPpm 蛋白和 FAT/CD36 蛋白的表达以及膜转位 [103]。肌细胞离体实验、电刺激和运动诱导的骨骼肌收缩在体实验基本都证实，AMPK/ACC 信号通路激活和脂肪酸转运蛋白协同调控骨骼肌脂肪酸氧化。

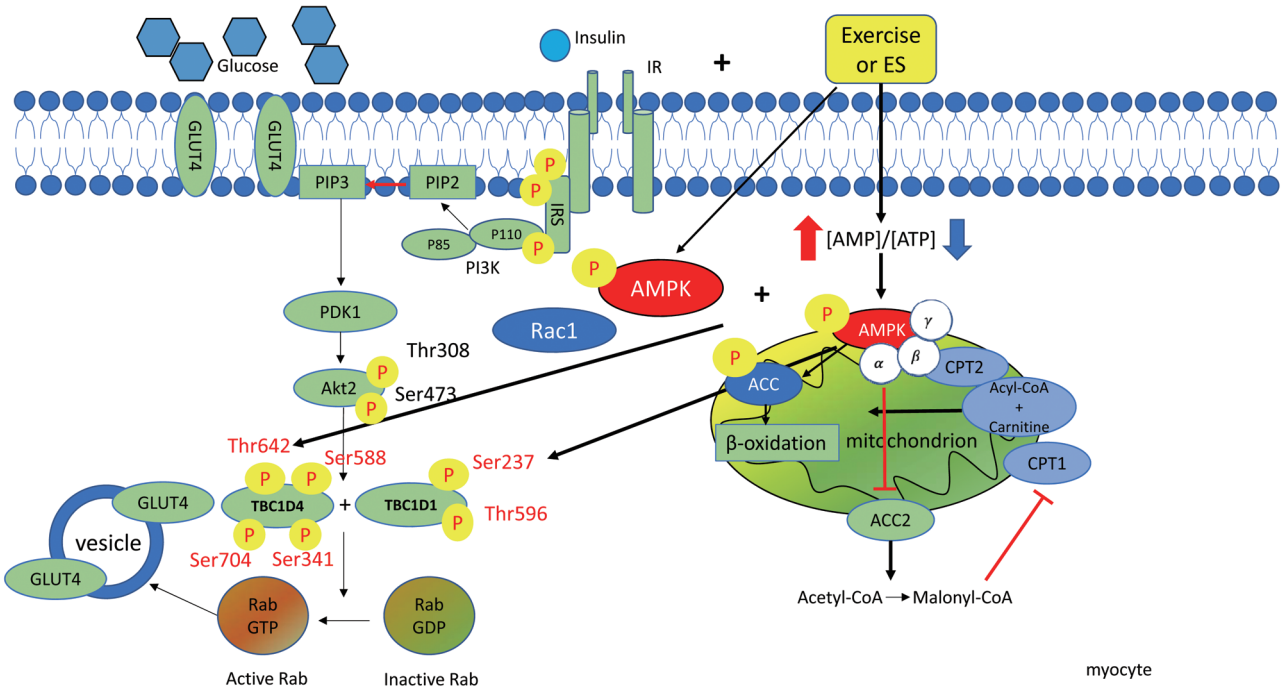
4　运动调控AMPK在2型糖尿病和衰老中的作用

许多 AMPK 激活剂，如化合物 991[59]、PF739[57]、MK-8722[58] 等促进骨骼肌葡萄糖摄取和降低肥胖小鼠或非人哺乳动物血糖水平，可能减轻或逆转 2 型糖尿病的病理过程 [58]。其中，MK-8722 调控 2 型糖尿病中血糖稳态，其作用与长期耐力运动训练结果一致 [58]。AMPK 激活剂 R419、GW1516 和 NDI-5033 能提高肥胖或正常小鼠耐力运动能力 [60, 104-105]。多项研究表明，AMPK 激活剂作为运动模拟剂对肥胖、2 型糖尿病等代谢类疾病具有治疗作用，中等

强度急性运动或耐力运动训练通过激活 AMPK 改善 2 型糖尿病患者的骨骼肌、肝脏糖脂代谢以及血糖和血脂稳态，其机制主要是增加 AMPK α2β2γ3 复合物活性和激活 ACC2、TBC1D1 和 TBC1D4[41, 55, 106]。耐力运动训练能显著激活 2 型糖尿病大鼠骨骼肌 AMPK 的上游激酶 LKB1 蛋白 [107]。除此之外，Yan 教授团队研究发现，运动通过激活骨骼肌 AMPK/Ulk1 信号通路促进线粒体自噬 [91]；还有研究表明运动通过激活 mitoAMPK (线粒体 AMPK) 诱导线粒体自噬进而改善内质网应激和线粒体质量控制 [108]。长期游泳训练通过激活 AMPK/SIRT1/PGC1α 信号通路抑制衰老的小鼠海马体细胞凋亡和炎症反应 [109]。长期有氧运动训练通过激活 AMPK 信号通路平衡细胞凋亡和细胞自噬，改善衰老大鼠的大脑纹状体功能 [110-111]。还有研究表明，运动结合补充亚精胺 (天然多胺) 通过增强细胞自噬和激活 AMPK/ FOXO3a 信号通路减少细胞凋亡，从而抑制衰老的大鼠骨骼肌萎缩 [112]。综上所述，急性运动或耐力运动训练皆可通过激活骨骼肌和肝脏组织中 AMPK 介导的糖脂代谢和细胞 / 线粒体自噬信号通路来改善肥胖、2 型糖尿病、衰老等代谢类疾病。

5 小结与展望

AMPK 作为重要的经典蛋白激酶，感受细胞能量的变化，在运动或电刺激引起的骨骼肌收缩中起到重要的调控作用。运动通过激活骨骼肌 AMPK 促进糖脂代谢，使其氧化分解，为骨骼肌收缩提供 ATP。在糖代谢中 AMPK 介导的 TBC1D1/TBC1D4 信号通路调控 VAMP-2 囊泡相关膜蛋白转位以促进骨骼肌葡萄糖摄取，同时联合胰岛素激活的 Akt 信号通路进一步促进骨骼肌葡萄糖摄取；在脂代谢中，AMPK/ACC 信号通路的激活促进骨骼肌脂肪酸氧化，在此过程中 CPT1/2 协助游离脂肪酸转运至线粒体进行 β 氧化 (图 2)，同时 FAT/CD36、FABPpm 和 FATP1/4 具有协助脂肪酸转运至膜内的协同作用。Rac1 和 AXIN 调控 AMPK 活性和磷酸化促进 TBC1D1/TBC1D4 介导的 GLUT4 转位至细胞膜，以促进骨骼肌葡萄糖摄取，但这两种蛋白不是 AMPK 的直接上游激酶，故其调控的具体作用机制仍有待进一步研究。新发现的 AMPK 正向调控因子 FGF19、SCD1、SIRT1、MTX、SIRT6 和一些中药化合物 (染料木素、黄连素和白藜芦醇) 促进骨骼



运动或电刺激促进肌细胞内[AMP]/[ATP]浓度升高，进而促进AMPKα Thr172磷酸化。AMPK的激活一方面促进肌细胞内细胞质和线粒体ACC1/2磷酸化，抑制其ACC酶的活性，从而促进线粒体外膜和内膜CPT1/2转运的脂肪酸进行β氧化；另一方面，AMPK的激活促进肌细胞TBC1D1和TBC1D4磷酸化，通过激活Rab GTP促进携带GLUT4的囊泡转运至肌细胞膜以促进葡萄糖的摄取和氧化。

图2 运动或电刺激对骨骼肌AMPK介导的糖脂代谢信号通路的调控作用

肌脂肪酸氧化，而 AMPK 负向调控因子 GDAP1、FAK 和 miR-34a 抑制骨骼肌脂代谢。中高强度急性运动或高频率小鼠在体电刺激实验结果表明，在运动或电刺激诱导的骨骼肌收缩中 AMPK/ACC 信号通路和 AMPK/TBC1D1 信号通路的激活分别促进骨骼肌脂肪酸氧化和葡萄糖摄取。运动或降糖类药物自身可积极调控肥胖、2 型糖尿病等代谢类疾病患者的血糖稳态和脂肪酸氧化，但是运动结合药物能否有效改善骨骼肌或肝脏的糖脂代谢，研究结果不尽相同，且细胞分子作用机制具有多样性和系统性。因而，何种运动方式结合适宜剂量的药物更有效提高骨骼肌糖脂代谢速率以及骨骼肌糖脂代谢在运动中占据的比例问题有待进一步探索。

(1) 运动本身激活小鼠骨骼肌 AMPK 介导的糖脂代谢信号通路，能否结合常见的 AMPK 激活剂 (AICAR、二甲双胍、A-769662、复合物 991、PF739 和 MK8722) 或其他药物 (水杨酸、白藜芦醇、黄连素、吡格列酮和曲格列酮) 进一步促进骨骼肌糖脂代谢；基于运动和药物单独作用的正向研究结果，二者联合作用的正向结果研究甚少且分子作用机制不明确。

(2) 运动过程中是否存在骨骼肌脂代谢和糖代谢的竞争，以及两者的主次关系、脂肪和葡萄糖供能的比例问题。基于 AMPKα2 Thr172A KI 模式小鼠骨骼肌 (腓肠肌) 具有全细胞和线粒体 AMPKα Thr172 磷酸化蛋白表达显著下降的特性 [108]，中高强度长时间的运动模式或高频率一定时长的电刺激对骨骼肌脂代谢的促进作用可能强于对骨骼肌糖代谢的促进作用。

(3) 研究表明 AMPK 位于线粒体膜上，调控运动和能量应激诱导的线粒体自噬过程 [108]，这表明线粒体 AMPK (mitoAMPK) 的激活对细胞能量代谢具有重要作用，也是未来 AMPK 通过调控线粒体内相应信号通路以改变骨骼肌能量代谢的研究方向。

[参　考　文　献]

[1] Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19: 121-35

[2] Hatakeyama H, Morino T, Ishii T, et al. Cooperative actions of Tbc1d1 and AS160/Tbc1d4 in GLUT4-trafficking activities. J Biol Chem, 2019, 294: 1161-72

[3] Kristiansen S, Hargreaves M, Richter EA. Exercise-induced increase in glucose transport, GLUT-4, and VAMP-2 in plasma membrane from human muscle. Am J Physiol, 1996, 270: E197-201

[4] Coyle EF, Jeukendrup AE, Wagenmakers AJ, et al. Fatty acid oxidation is directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise. Am J Physiol, 1997, 273: E268-75

[5] Chang H, Kwon O, Shin MS, et al. Role of Angptl4/Fiaf in exercise-induced skeletal muscle AMPK activation. J Appl Physiol (1985), 2018, 125: 715-22

[6] Fritzen AM, Lundsgaard AM, Kiens B. Tuning fatty acid oxidation in skeletal muscle with dietary fat and exercise. Nat Rev Endocrinol, 2020, 16: 683-96

[7] Hingst JR, Kjobsted R, Birk JB, et al. Inducible deletion of skeletal muscle AMPKα reveals that AMPK is required for nucleotide balance but dispensable for muscle glucose uptake and fat oxidation during exercise. Mol Metab, 2020, 40: 101028

[8] Canto C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD+ metabolism and SIRT1 activity. Nature, 2009, 458: 1056-60

[9] Gowans GJ, Hardie DG. AMPK: a cellular energy sensor primarily regulated by AMP. Biochem Soc Trans, 2014, 42: 71-5

[10] Zhang CS, Hawley SA, Zong Y, et al. Fructose-1,6-bisphosphate and aldolase mediate glucose sensing by AMPK. Nature, 2017, 548: 112-6

[11] Ma T, Tian X, Zhang B, et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2. Nature, 2022, 603: 159-65

[12] Wu D, Hu D, Chen H, et al. Glucose-regulated phosphorylation of TET2 by AMPK reveals a pathway linking diabetes to cancer. Nature, 2018, 559: 637-41

[13] Smith CD, Compton RA, Bowler JS, et al. Characterization of the liver kinase B1-mouse protein-25-Ste-20-related adaptor protein complex in adult mouse skeletal muscle. J Appl Physiol (1985), 2011, 111: 1622-8

[14] Jensen TE, Rose AJ, Jorgensen SB, et al. Possible CaMKK-dependent regulation of AMPK phosphorylation and glucose uptake at the onset of mild tetanic skeletal muscle contraction. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 292: E1308-17

[15] Treebak JT, Birk JB, Rose AJ, et al. AS160 phosphorylation is associated with activation of α2β2γ1- but not α2β2γ3-AMPK trimeric complex in skeletal muscle during exercise in humans. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 292: E715-22

[16] Sakamoto K, Goransson O, Hardie DG, et al. Activity of LKB1 and AMPK-related kinases in skeletal muscle: effects of contraction, phenformin, and AICAR. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004, 287: E310-7

[17] 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: 9-19

[18] 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: 32571-7
[19] Wojtaszewski JF, Nielsen P, Hansen BF, et al. Isoform-specific and exercise intensity-dependent activation of 5'-AMP-activated protein kinase in human skeletal muscle. J Physiol, 2000, 528 Pt 1: 221-6
[20] Birk JB, Wojtaszewski JF. Predominant α2β2γ3 AMPK activation during exercise in human skeletal muscle. J Physiol, 2006, 577: 1021-32
[21] Treebak JT, Pehmoller C, Kristensen JM, et al. Acute exercise and physiological insulin induce distinct phosphorylation signatures on TBC1D1 and TBC1D4 proteins in human skeletal muscle. J Physiol, 2014, 592: 351-75
[22] McConell GK, Lee-Young RS, Chen ZP, et al. Short-term exercise training in humans reduces AMPK signalling during prolonged exercise independent of muscle glycogen. J Physiol, 2005, 568: 665-76
[23] Chen ZP, Stephens TJ, Murthy S, et al. Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK signaling in humans. Diabetes, 2003, 52: 2205-12
[24] Nielsen JN, Mustard KJ, Graham DA, et al. 5'-AMP-activated protein kinase activity and subunit expression in exercise-trained human skeletal muscle. J Appl Physiol (1985), 2003, 94: 631-41
[25] Frosig C, Jorgensen SB, Hardie DG, et al. 5'-AMP-activated protein kinase activity and protein expression are regulated by endurance training in human skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004, 286: E411-7
[26] Mortensen B, Hingst JR, Frederiksen N, et al. Effect of birth weight and 12 weeks of exercise training on exercise-induced AMPK signaling in human skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2013, 304: E1379-90
[27] Wojtaszewski JF, Birk JB, Frosig C, et al. 5'AMP activated protein kinase expression in human skeletal muscle: effects of strength training and type 2 diabetes. J Physiol, 2005, 564: 563-73
[28] Barnes BR, Long YC, Steiler TL, et al. Changes in exercise-induced gene expression in 5'-AMP-activated protein kinase γ3-null and γ3 R225Q transgenic mice. Diabetes, 2005, 54: 3484-9
[29] Lendoye E, Sibille B, Rousseau AS, et al. PPARβ activation induces rapid changes of both AMPK subunit expression and AMPK activation in mouse skeletal muscle. Mol Endocrinol, 2011, 25: 1487-98
[30] Kjobsted R, Hingst JR, Fentz J, et al. AMPK in skeletal muscle function and metabolism. FASEB J, 2018, 32: 1741-77
[31] Mu J, Brozinick JJ, Valladares O, et al. A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. Mol Cell, 2001, 7: 1085-94
[32] Koistinen HA, Galuska D, Chibalin AV, et al. 5-amino-imidazole carboxamide riboside increases glucose transport and cell-surface GLUT4 content in skeletal muscle from subjects with type 2 diabetes. Diabetes, 2003, 52: 1066-72
[33] Chavez JA, Roach WG, Keller SR, et al. Inhibition of GLUT4 translocation by Tbc1d1, a Rab GTPase-activating protein abundant in skeletal muscle, is partially relieved by AMP-activated protein kinase activation. J Biol Chem, 2008, 283: 9187-95
[34] Chen S, Murphy J, Toth R, et al. Complementary regulation of TBC1D1 and AS160 by growth factors, insulin and AMPK activators. Biochem J, 2008, 409: 449-59
[35] Maher AC, McFarlan J, Lally J, et al. TBC1D1 reduces palmitate oxidation by inhibiting β-HAD activity in skeletal muscle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2014, 307: R1115-23
[36] Sakamoto K, Holman GD. Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008, 295: E29-37
[37] Bruss MD, Arias EB, Lienhard GE, et al. Increased phosphorylation of Akt substrate of 160 kDa (AS160) in rat skeletal muscle in response to insulin or contractile activity. Diabetes, 2005, 54: 41-50
[38] Frosig C, Pehmoller C, Birk JB, et al. Exercise-induced TBC1D1 Ser237 phosphorylation and 14-3-3 protein binding capacity in human skeletal muscle. J Physiol, 2010, 588: 4539-48
[39] Vichaiwong K, Purohit S, An D, et al. Contraction regulates site-specific phosphorylation of TBC1D1 in skeletal muscle. Biochem J, 2010, 431: 311-20
[40] Kristensen DE, Albers PH, Prats C, et al. Human muscle fibre type-specific regulation of AMPK and downstream targets by exercise. J Physiol, 2015, 593: 2053-69
[41] Kjobsted R, Pedersen AJ, Hingst JR, et al. Intact regulation of the AMPK signaling network in response to exercise and insulin in skeletal muscle of male patients with type 2 diabetes: illumination of AMPK activation in recovery from exercise. Diabetes, 2016, 65: 1219-30
[42] Liu Y, Nguyen PT, Wang X, et al. TLR9 and beclin 1 crosstalk regulates muscle AMPK activation in exercise. Nature, 2020, 578: 605-9
[43] Kjobsted R, Roll J, Jorgensen NO, et al. AMPK and TBC1D1 regulate muscle glucose uptake after, but not during, exercise and contraction. Diabetes, 2019, 68: 1427-40
[44] Jiang P, Ren L, Zhi L, et al. Negative regulation of AMPK signaling by high glucose via E3 ubiquitin ligase MG53. Mol Cell, 2021, 81: 629-37
[45] Hoffman NJ, Parker BL, Chaudhuri R, et al. Global phosphoproteomic analysis of human skeletal muscle reveals a network of exercise-regulated kinases and AMPK substrates. Cell Metab, 2015, 22: 922-35
[46] Funai K, Cartee GD. Inhibition of contraction-stimulated AMP-activated protein kinase inhibits contraction-stimulated increases in PAS-TBC1D1 and glucose transport without altering PAS-AS160 in rat skeletal muscle. Diabetes, 2009, 58: 1096-104
[47] Szekeres F, Chadt A, Tom RZ, et al. The Rab-GTPase-activating protein TBC1D1 regulates skeletal muscle glucose metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab,

2012, 303: E524-33
[48] Stockli J, Meoli CC, Hoffman NJ, et al. The RabGAP TBC1D1 plays a central role in exercise-regulated glucose metabolism in skeletal muscle. Diabetes, 2015, 64: 1914-22
[49] Chen L, Chen Q, Xie B, et al. Disruption of the AMPK-TBC1D1 nexus increases lipogenic gene expression and causes obesity in mice via promoting IGF1 secretion. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113: 7219-24
[50] Chen Q, Xie B, Zhu S, et al. A Tbc1d1 (Ser231Ala)-knockin mutation partially impairs AICAR- but not exercise-induced muscle glucose uptake in mice. Diabetologia, 2017, 60: 336-45
[51] Steenberg DE, Jorgensen NB, Birk JB, et al. Exercise training reduces the insulin-sensitizing effect of a single bout of exercise in human skeletal muscle. J Physiol, 2019, 597: 89-103
[52] Dreyer HC, Drummond MJ, Glynn EL, et al. Resistance exercise increases human skeletal muscle AS160/TBC1D4 phosphorylation in association with enhanced leg glucose uptake during postexercise recovery. J Appl Physiol (1985), 2008, 105: 1967-74
[53] Ducommun S, Wang HY, Sakamoto K, et al. Thr649Ala-AS160 knock-in mutation does not impair contraction/AICAR-induced glucose transport in mouse muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2012, 302: E1036-43
[54] Musi N, Fujii N, Hirshman MF, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) is activated in muscle of subjects with type 2 diabetes during exercise. Diabetes, 2001, 50: 921-7
[55] Sriwijitkamol A, Coletta DK, Wajcberg E, et al. Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. Diabetes, 2007, 56: 836-48
[56] Thomas A, Belaidi E, Moulin S, et al. Chronic intermittent hypoxia impairs insulin sensitivity but improves whole-body glucose tolerance by activating skeletal muscle AMPK. Diabetes, 2017, 66: 2942-51
[57] Cokorinos EC, Delmore J, Reyes AR, et al. Activation of skeletal muscle AMPK promotes glucose disposal and glucose lowering in non-human primates and mice. Cell Metab, 2017, 25: 1147-59
[58] Myers RW, Guan HP, Ehrhart J, et al. Systemic pan-AMPK activator MK-8722 improves glucose homeostasis but induces cardiac hypertrophy. Science, 2017, 357: 507-11
[59] Bultot L, Jensen TE, Lai YC, et al. Benzimidazole derivative small-molecule 991 enhances AMPK activity and glucose uptake induced by AICAR or contraction in skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2016, 311: E706-19
[60] Marcinko K, Bujak AL, Lally JS, et al. The AMPK activator R419 improves exercise capacity and skeletal muscle insulin sensitivity in obese mice. Mol Metab, 2015, 4: 643-51
[61] Kwak SY, Seo IH, Chung I, et al. Effect of chitinase-3-like protein 1 on glucose metabolism: *in vitro* skeletal muscle and human genetic association study. FASEB J, 2020, 34: 13445-60
[62] Knudsen JR, Madsen AB, Persson KW, et al. The ULK1/2 and AMPK inhibitor SBI-0206965 blocks AICAR and insulin-stimulated glucose transport. Int J Mol Sci, 2020, 21: 2344-53
[63] Ngoei K, Langendorf CG, Ling N, et al. Structural determinants for small-molecule activation of skeletal muscle AMPK α2β2γ1 by the glucose importagog SC4. Cell Chem Biol, 2018, 25: 728-37
[64] Arha D, Ramakrishna E, Gupta AP, et al. Isoalantolactone derivative promotes glucose utilization in skeletal muscle cells and increases energy expenditure in db/db mice via activating AMPK-dependent signaling. Mol Cell Endocrinol, 2018, 460: 134-51
[65] Maeda A, Shirao T, Shirasaya D, et al. Piperine promotes glucose uptake through ROS-dependent activation of the CAMKK/AMPK signaling pathway in skeletal muscle. Mol Nutr Food Res, 2018, 62: e1800086
[66] Pirkmajer S, Kulkarni SS, Tom RZ, et al. Methotrexate promotes glucose uptake and lipid oxidation in skeletal muscle via AMPK activation. Diabetes, 2015, 64: 360-9
[67] Chen JX, Li HY, Li TT, et al. Alisol A-24-acetate promotes glucose uptake via activation of AMPK in C2C12 myotubes. BMC Complement Med Ther, 2020, 20: 22
[68] Naimi M, Tsakiridis T, Stamatatos TC, et al. Increased skeletal muscle glucose uptake by rosemary extract through AMPK activation. Appl Physiol Nutr Metab, 2015, 40: 407-13
[69] Vlavcheski F, Naimi M, Murphy B, et al. Rosmarinic acid, a rosemary extract polyphenol, increases skeletal muscle cell glucose uptake and activates AMPK. Molecules, 2017, 22: 1669
[70] Zhang C, Jiang Y, Liu J, et al. AMPK/AS160 mediates tiliroside derivatives-stimulated GLUT4 translocation in muscle cells. Drug Des Devel Ther, 2018, 12: 1581-7
[71] Liu W, Sun H, Zhou Y, et al. Goat milk consumption ameliorates abnormalities in glucose metabolism and enhances hepatic and skeletal muscle AMP-activated protein kinase activation in rats fed with high-fat diets. Mol Nutr Food Res, 2019, 63: e1900703
[72] Lee HJ, Lee JO, Kim N, et al. Irisin, a novel myokine, regulates glucose uptake in skeletal muscle cells via AMPK. Mol Endocrinol, 2015, 29: 873-81
[73] Fujimoto T, Sugimoto K, Takahashi T, et al. Overexpression of interleukin-15 exhibits improved glucose tolerance and promotes GLUT4 translocation via AMP-Activated protein kinase pathway in skeletal muscle. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 509: 994-1000
[74] Nadeau L, Patten DA, Caron A, et al. IL-15 improves skeletal muscle oxidative metabolism and glucose uptake in association with increased respiratory chain supercomplex formation and AMPK pathway activation. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2019, 1863: 395-407
[75] Sylow L, Nielsen IL, Kleinert M, et al. Rac1 governs exercise-stimulated glucose uptake in skeletal muscle through regulation of GLUT4 translocation in mice. J

Physiol, 2016, 594: 4997-5008
[76] Yue Y, Zhang C, Zhao X, et al. Tiam1 mediates Rac1 activation and contraction-induced glucose uptake in skeletal muscle cells. FASEB J, 2021, 35: e21210
[77] Lin SC, Hardie DG. AMPK: sensing glucose as well as cellular energy status. Cell Metab, 2018, 27: 299-313
[78] Li J, Knudsen JR, Henriquez-Olguin C, et al. AXIN1 knockout does not alter AMPK/mTORC1 regulation and glucose metabolism in mouse skeletal muscle. J Physiol, 2021, 599: 3081-100
[79] Yue Y, Zhang C, Zhang X, et al. An AMPK/Axin1-Rac1 signaling pathway mediates contraction-regulated glucose uptake in skeletal muscle cells. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2020, 318: E330-42
[80] Blair DR, Funai K, Schweitzer GG, et al. A myosin II ATPase inhibitor reduces force production, glucose transport, and phosphorylation of AMPK and TBC1D1 in electrically stimulated rat skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009, 296: E993-1002
[81] Kjobsted R, Munk-Hansen N, Birk JB, et al. Enhanced muscle insulin sensitivity after contraction/exercise is mediated by AMPK. Diabetes, 2017, 66: 598-612
[82] O'Neill HM, Lally JS, Galic S, et al. AMPK phosphorylation of ACC2 is required for skeletal muscle fatty acid oxidation and insulin sensitivity in mice. Diabetologia, 2014, 57: 1693-702
[83] Yoon H, Spinelli JB, Zaganjor E, et al. PHD3 loss promotes exercise capacity and fat oxidation in skeletal muscle. Cell Metab, 2020, 32: 215-28
[84] McConell GK, Wadley GD, Le Plastrier K, et al. Skeletal muscle AMPK is not activated during 2 h of moderate intensity exercise at approximately 65% VO_{2peak} in endurance trained men. J Physiol, 2020, 598: 3859-70
[85] Pataky MW, Arias EB, Wang H, et al. Exercise effects on γ3-AMPK activity, phosphorylation of Akt2 and AS160, and insulin-stimulated glucose uptake in insulin-resistant rat skeletal muscle. J Appl Physiol (1985), 2020, 128: 410-21
[86] Abbott MJ, Turcotte LP. AMPK-α2 is involved in exercise training-induced adaptations in insulin-stimulated metabolism in skeletal muscle following high-fat diet. J Appl Physiol (1985), 2014, 117: 869-79
[87] Fentz J, Kjobsted R, Birk JB, et al. AMPKα is critical for enhancing skeletal muscle fatty acid utilization during in vivo exercise in mice. FASEB J, 2015, 29: 1725-38
[88] O'Neill HM, Maarbjerg SJ, Crane JD, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) β1β2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108: 16092-7
[89] Lantier L, Fentz J, Mounier R, et al. AMPK controls exercise endurance, mitochondrial oxidative capacity, and skeletal muscle integrity. FASEB J, 2014, 28: 3211-24
[90] Martin-Rincon M, Morales-Alamo D, Calbet J. Exercise-mediated modulation of autophagy in skeletal muscle. Scand J Med Sci Sports, 2018, 28: 772-81
[91] Laker RC, Drake JC, Wilson RJ, et al. Ampk phosphorylation of Ulk1 is required for targeting of mitochondria to lysosomes in exercise-induced mitophagy. Nat Commun, 2017, 8: 548
[92] Oost LJ, Kustermann M, Armani A, et al. Fibroblast growth factor 21 controls mitophagy and muscle mass. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2019, 10: 630-42
[93] Cui X, Yao L, Yang X, et al. SIRT6 regulates metabolic homeostasis in skeletal muscle through activation of AMPK. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2017, 313: E493-505
[94] Cerda-Kohler H, Henriquez-Olguin C, Casas M, et al. Lactate administration activates the ERK1/2, mTORC1, and AMPK pathways differentially according to skeletal muscle type in mouse. Physiol Rep, 2018, 6: e13800
[95] Lassiter DG, Sjogren R, Gabriel BM, et al. AMPK activation negatively regulates GDAP1, which influences metabolic processes and circadian gene expression in skeletal muscle. Mol Metab, 2018, 16: 12-23
[96] Lassiter DG, Nylen C, Sjogren R, et al. FAK tyrosine phosphorylation is regulated by AMPK and controls metabolism in human skeletal muscle. Diabetologia, 2018, 61: 424-32
[97] Guo A, Li K, Xiao Q. Fibroblast growth factor 19 alleviates palmitic acid-induced mitochondrial dysfunction and oxidative stress via the AMPK/PGC-1α pathway in skeletal muscle. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526: 1069-76
[98] Dziewulska A, Dobosz AM, Dobrzyn A, et al. SCD1 regulates the AMPK/SIRT1 pathway and histone acetylation through changes in adenine nucleotide metabolism in skeletal muscle. J Cell Physiol, 2020, 235: 1129-40
[99] Guevara-Cruz M, Godinez-Salas ET, Sanchez-Tapia M, et al. Genistein stimulates insulin sensitivity through gut microbiota reshaping and skeletal muscle AMPK activation in obese subjects. BMJ Open Diabetes Res Care, 2020, 8: e000948
[100] Yu Y, Zhao Y, Teng F, et al. Berberine improves cognitive deficiency and muscular dysfunction via activation of the AMPK/SIRT1/PGC-1α pathway in skeletal muscle from naturally aging rats. J Nutr Health Aging, 2018, 22: 710-7
[101] Wen W, Chen X, Huang Z, et al. Resveratrol regulates muscle fiber type conversion via miR-22-3p and AMPK/SIRT1/PGC-1α pathway. J Nutr Biochem, 2020, 77: 108297
[102] Simao AL, Afonso MB, Rodrigues PM, et al. Skeletal muscle miR-34a/SIRT1:AMPK axis is activated in experimental and human non-alcoholic steatohepatitis. J Mol Med (Berl), 2019, 97: 1113-26
[103] Jeppesen J, Albers P, Luiken JJ, et al. Contractions but not AICAR increase FABPpm content in rat muscle sarcolemma. Mol Cell Biochem, 2009, 326: 45-53
[104] Narkar VA, Downes M, Yu RT, et al. AMPK and PPARδ agonists are exercise mimetics. Cell, 2008, 134: 405-15
[105] Klein JD, Khanna I, Pillarisetti R, et al. An AMPK activator as a therapeutic option for congenital nephrogenic diabetes insipidus. JCI Insight, 2021, 6: e146419

[106] Yi X, Cao S, Chang B, et al. Effects of acute exercise and chronic exercise on the liver leptin-AMPK-ACC signaling pathway in rats with type 2 diabetes. J Diabetes Res, 2013, 2013: 946432

[107] Cao S, Li B, Yi X, et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. PLoS One, 2012, 7: e51709

[108] Drake JC, Wilson RJ, Laker RC, et al. Mitochondria-localized AMPK responds to local energetics and contributes to exercise and energetic stress-induced mitophagy. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118: e2025-932118

[109] Lin JY, Kuo WW, Baskaran R, et al. Swimming exercise stimulates IGF1/PI3K/Akt and AMPK/SIRT1/PGC1α survival signaling to suppress apoptosis and inflammation in aging hippocampus. Aging (Albany NY), 2020, 12: 6852-64

[110] Liu W, Wang Z, Xia Y, et al. The balance of apoptosis and autophagy via regulation of the AMPK signal pathway in aging rat striatum during regular aerobic exercise. Exp Gerontol, 2019, 124: 110647

[111] Crane JD, MacNeil LG, Lally JS, et al. Exercise-stimulated interleukin-15 is controlled by AMPK and regulates skin metabolism and aging. Aging Cell, 2015, 14: 625-34

[112] Fan J, Yang X, Li J, et al. Spermidine coupled with exercise rescues skeletal muscle atrophy from D-gal-induced aging rats through enhanced autophagy and reduced apoptosis via AMPK-FOXO3a signal pathway. Oncotarget, 2017, 8: 17475-90