特约综述

本实验室的主要研究目的在于追寻蛋白质磷酸化多细胞生长和代谢的调控, 揭示调控异常如何导致肿瘤和代谢综合征之类的疾病, 研发对异常靶点的纠正, 以期对疾病的预防和治疗控制。主要的研究领域包括: (1)有丝分裂原蛋白激酶传导通道; (2)AMP-活化蛋白激酶(AMPK)对肿瘤细胞的代谢和生长的调节作用。本人长期致力于有丝分裂原蛋白激酶传导通道的关键酶——Raf激酶激活机制及生物学功能研究。本实验室另一研究领域为AMPK对肿瘤细胞的代谢和生长的调节作用。首先发现了AMPK能抑制肿瘤细胞的蛋白质、脂质合成从而抑制其生长, 因而提出AMPK为代谢性肿瘤抑制因子的假说。本实验室目前的研究着重于AMPK对肿瘤细胞的代谢、生长、凋亡和自噬的调节机制, 力图揭示线粒体在介导这些调节过程中的作用。

http://jcyxy.ncu.edu.cn/news/xyxw/1262315422021I6H5CJ65J4K6KG572F5.html

AMPK对线粒体功能的调节

王 艳[1#] 黄德强[2#] 罗志军[3*]

([1]南昌大学医学院药理学教研室, 南昌 330006; [2]南昌大学第一附属医院消化疾病研究所, 南昌 330006; [3]南昌大学基础医学研究所肿瘤研究室, 南昌 330006)

摘要 5′单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是细胞的能量感受器, 调节细胞能量代谢, 在正常细胞和癌细胞中均发挥重要的生物功能, 它的激活有助于纠正代谢紊乱, 使细胞代谢趋向生理平衡。在细胞应急反应中, 细胞感受到能量危机, ATP浓度下降, AMP浓度上升, 细胞内AMP/ATP比例上升, AMPK被激活; 而在病理状态下, 如代谢综合征、肿瘤等, 常伴随能量代谢紊乱和AMPK激活抑制, 因此, AMPK被视为治疗代谢性疾病与肿瘤的潜在作用靶点。然而, AMPK对能量代谢的调节与线粒体的功能密不可分, 线粒体作为细胞的能量工厂, 在健康与疾病中也发挥着重要的作用。越来越多的研究表明, 线粒体能影响AMPK的活性, 同时AMPK也通过多方面对线粒体进行调节, 线粒体相关疾病与AMPK的调节有着密切的关系。该文主要针对AMPK是如何对线粒体的合成、线粒体自噬、内源性凋亡及线粒体相关疾病等方面进行综述。

关键词 AMPK; 线粒体; 线粒体合成; 线粒体自噬; 线粒体疾病

AMPK Regulate Mitochondrial Function

Wang Yan[1#], Huang Deqiang[2#], Luo Zhijun[3*]

([1]*Department of Pharmacology of Medical College of Nanchang University, Nanchang 330006, China*; [2]*Research Institute of Digestive Disease, the First Hospital of Nanchang University School of Medicine, Nanchang 330006, China*; [3]*Laboratory of Cancer Research, Institute of Basic Medical Science, Nanchang University, Nanchang 330006, China*)

国家自然科学基金(批准号: 81272926、81171952)资助的课题

#共同第一作者

*通讯作者。Tel: 0791-88692507, E-mail: zluo559914@gmail.com

This work was supported by the National Natural Sciences Foundation of China (Grant No.81272926, 81171952)

#These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-791-88692507, E-mail: zluo559914@gmail.com

网络出版时间: 2013-09-13 16:56 URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130913.1656.001.html

Abstract　AMP-activated protein kinase (AMPK) serves as a fuel sensor that plays important roles in regulating energy metabolisms in almost all cells under both physiological and pathological circumstances. AMPK is activated under stresses, when cells sense energy crisis concurrent with decreases in ATP levels and increases in AMP or the ratio of AMP to ATP. Some pathological conditions such as metabolic syndrome and cancer are also accompanied by deregulated energy metabolism and inhibition of AMPK. The activation of AMPK is helpful to restore physiological energy homeostasis. As such, AMPK emerges as promising therapeutic target for these disorders. The regulation of energy homeostasis by AMPK is closely related to the function of mitochondrion, which acts as an energy plant and is involved in both physiological and pathological processes. Mounting evidence has demonstrated that mitochondria can regulate AMPK activity and vice versa. AMPK also regulates mitochondria function in various aspects. In this review, we summarize recent research progress on how AMPK regulates mitochondrial biogenesis, mitophagy, intrinsic apoptosis and mitochondrion-related diseases.

Key words　AMPK; mitochondrion; mitochondrial biogenesis; mitophagy; mitochondrion-related diseases

AMPK在真核生物中是一种高度保守的蛋白激酶, 全酶由三个亚单位组成(图1), 催化亚单位为α, 两个调节亚单位分别为β和γ。哺乳动物的催化亚单位存在两种亚型(α1、α2), 调节亚单位分别有两种和三种亚型(β1、β2, γ1、γ2、γ3)。其中, γ亚单位与AMP结合, β亚单位与其它蛋白或底物结合, 将AMPK定位于细胞内的亚器官, 使其发挥作用[1]。AMPK是感受细胞能量变化的高度保守的感受器, 对ADP:ATP和AMP:ATP比率的改变非常敏感, 在代谢应激或受到能引起细胞能量失衡的外源性化合物刺激时, ADP:ATP或AMP:ATP比率升高, 激活AMPK。激活的AMPK一方面抑制消耗ATP的合成代谢, 保存能量; 另一方面刺激产能的分解代谢, 产生更多ATP, 供应急所需, 如刺激脂肪酸的氧化。当机体处于缺血、缺氧、饥饿、运动、应急等能量危机状态时, 上升的AMP会与γ亚单位AMP结合位点相结合, 引起全酶构像的改变, 使AMPK激活[1]。然而, AMP作为一种变构分子, 只能引起3~5倍的酶活性增加, 酶的完全激活还需要上游蛋白激酶对其催化中心第172位点的苏氨酸(threonine 172)的磷酸化[2], 这些上游蛋白激酶包括LKB1、CaMKK(Ca^{2+}/calmodulindependent protein kinase kinase)、TAK1(TGF-β-activated protein kinase 1)等[3-4], 但目前比较肯定的是前两种蛋白激酶。LKB1作为AMPK的主要上游蛋白激酶, 广泛存在于体内各细胞中, 为肿瘤抑制因子, 它的突变失活常见于肿瘤中, 并且在癌变与肿瘤的进展

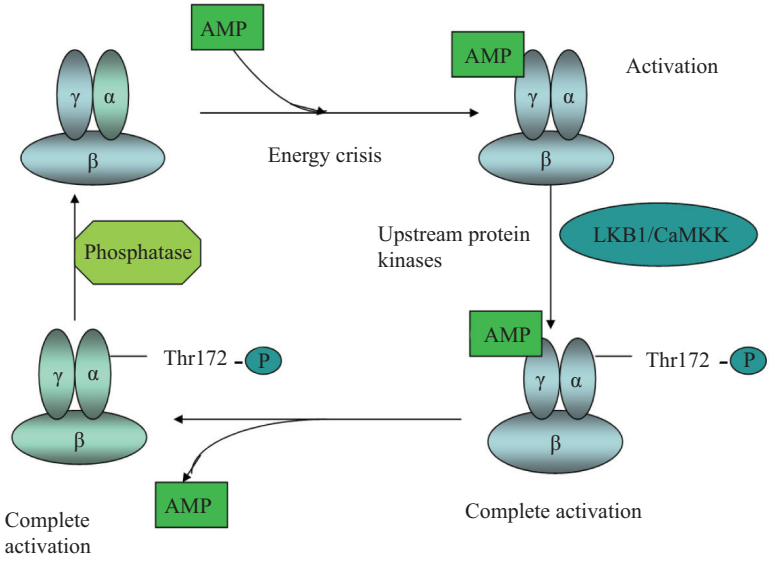

图1 AMPK激活模型

Fig.1 AMPK activation model

中起着重要作用[5], 提示AMPK可能与肿瘤有关。

大量的研究资料表明, AMPK在代谢性疾病的病理生理变化中起重要作用。在肥胖患者、Ⅱ型糖尿病患者及相应的动物模型试验中发现, 肝脏、脂肪和肌肉等外周组织中的AMPK活性均下降。临床上常用的抗糖尿病药二甲双胍(metformin)为AMPK的药理学激活剂, 它可以通过抑制线粒体氧化呼吸链复合物I, 使细胞内AMP增加, 导致AMPK的激活; 在代谢性综合征动物模型实验中, 使用AMPK激活剂可以降低血糖浓度, 缓解高血糖症、高血脂症, 使症状得到改善[6]。因此, AMPK被认为在抗糖尿病和代谢综合症中起重要作用, 成为有着广泛前景的治疗靶点。

近年来, 随着人们对肿瘤细胞代谢的认识不断加深, AMPK在肿瘤发病中的作用也受到广泛关注。大量的研究表明, AMPK可以通过调节细胞代谢抑制肿瘤细胞的增殖。肿瘤细胞的能量代谢不同于正常细胞, 有独特的能量代谢特征。正常条件下, 机体内绝大部分细胞通过线粒体的氧化磷酸化获得能量, 在应急时, 如缺氧, 通过线粒体外细胞质中的葡萄糖酵解途径补充能量。有氧磷酸化产生ATP的效率远高于糖酵解, 而肿瘤细胞即使在有氧条件下, 糖酵解依然为其主要能量合成来源, 这一现象被称为Warburg效应[7]。研究表明, 肿瘤细胞通过增加葡萄糖的摄取和加速糖酵解来合成ATP以满足代谢需求。肿瘤细胞糖酵解除了提供能量以外, 其中间产物也可作为其他合成代谢的前体, 此时线粒体也为脂肪酸和氨基酸的合成提供前体; 虽然, 肿瘤细胞中线粒体功能完整, 但是, 糖酵解的产物丙酮酸进入线粒体进一步代谢的能力下降[8]。因此, 一般认为, 如果能抑制肿瘤细胞的Warburg现象, 恢复线粒体的有氧能量代谢, 可以达到抑制肿瘤细胞增殖的效果。有趣的是, 最新的研究表明, AMPK可以抑制肿瘤的Warburg效应[9]。因此, AMPK在肿瘤的防治中有着广泛的应用前景。

线粒体起源于α-变形菌门[10], 像它们祖先细菌一样, 线粒体由分开的功能各异的外膜和内膜组成, 两层膜之间存在膜间隙, 中央为基质。目前研究发现, 线粒体内含有超过1 500种蛋白, 其中线粒体本身编码13种蛋白[11], 由线粒体特有的环状基因组——线粒体DNA(mtDNA)编码。线粒体有着许多不同却又相互联系的功能: 产生ATP和许多生物合成中间产物, 参与细胞应激反应例如自噬和凋亡等。越来越多的人类遗传疾病被证明与线粒体功能紊乱有关, 许多常见的基因缺陷疾病如神经退行性疾病、心肌症、代谢综合征、癌症和肥胖等也与线粒体密切相关。线粒体疾病涉及面非常广, 可以影响多个器官, 出现在多个年龄阶段, 通过任何一种染色体遗传获得[12]。但目前对线粒体功能异常仍没有很好的治愈方法, 主要的治疗策略还只是针对症状的缓解[13]。AMPK作为细胞能量感受器可以调节细胞的能量代谢、细胞的增殖和生长以及细胞其他方面的功能, 抑制癌症的发生发展[14-15]。有关AMPK对细胞代谢和生长的调控以及在相关疾病中的变化和作用, 已有大量综述报道[14,16], 本文不再赘述, 而是围绕AMPK对与细胞线粒体有关的功能调节方面进行小结。目前研究表明, AMPK对线粒体的合成、线粒体自噬、内源性凋亡及线粒体相关疾病均起到十分重要的作用, 深入对AMPK的研究或许能为治疗线粒体疾病带来新的希望, 本文就AMPK如何调节线粒体的合成、线粒体自噬、内源性凋亡及线粒体相关疾病等方面进行综述。

1 AMPK对线粒体能量代谢的影响

线粒体是脂肪酸代谢的关键场所, 而AMPK能通过影响乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)的活性影响线粒体的能量代谢[17]。ACC通过催化乙酰辅酶A(acetyl CoA)羧基化, 使之转化为苯二酰单酰辅酶A(malonyl CoA), 该产物既是脂肪酸合成前体, 同时又能抑制脂肪酸在线粒体的氧化。ACC有两个亚型, 分别为ACCI和ACCII, ACCI存在于细胞质中, 而ACCII则通过氨基端含有的一个线粒体结合位点定位于线粒体上[18]。AMPK首先被发现为乙酰辅酶A羧化酶的蛋白激酶, 可以磷酸化ACC(磷酸化位点是ACCI第79位上的丝氨酸), 导致其活性下降, 从而使苯二酰单酰辅酶A水平降低。

长链脂肪酸转运至线粒体进行β-氧化时, 需要线粒体转运蛋白的参与, 其中关键蛋白肉毒棕榈转移酶I(CPT-I)的活性受苯二酰单酰辅酶A的抑制。因此, 当AMPK被激活时, 导致线粒体上的ACCII磷酸化, 使苯二酰单酰辅酶A水平下降, 从而解除对CPT-I的抑制, 使进入线粒体的脂肪酸增加, 刺激β-氧化, ATP的合成增加。这是第一个被发现的AMPK调节线粒体蛋白的功能[19]。早些年Muoio等[20]体内研究

发现, AMPK的磷酸化可以抑制线粒体甘油磷酸乙酰转移酶(GPAT), 而GPAT可以催化甘油脂类合成的关键步骤。由于线粒体GPAT和CPT-I均定位于线粒体外膜, GPAT会直接和CPT-I拮抗竞争乙酰辅酶A底物, 由此AMPK调节乙酰辅酶A进而促进β-氧化, 而远离甘油脂类的合成。

另外, 最近的研究显示, AMPK可以抑制线粒体ATP合成酶抑制蛋白(β-F1 inhibitor protein)的表达[21]。ATP合成酶为氧化呼吸链复合物V的主要蛋白, 它的活性受抑制蛋白的控制, 这一研究表明, AMPK的激活可以刺激氧化呼吸链的活性, 促进ATP的合成。

2　AMPK对线粒体合成的调节

线粒体的合成过程非常复杂, 涉及1 000多种基因表达以及细胞内约20%的蛋白质水平的改变, 而且该过程受细胞核和线粒体两个基因组相互协调[22]。许多因素会影响线粒体的合成: (1)甲状腺和类固醇类等激素通过调节编码线粒体蛋白的细胞核基因的表达影响线粒体的合成; (2)在衰老过程中线粒体合成比率下降[23], 但机理尚不清楚, 可能与H_2O_2及NO由线粒体释放至胞浆的信号多效性有关[24]; (3)一些转录因子和辅酶因子参与激活并调节线粒体的合成, 这些调节因子大概可分为三类: 广泛存在的转录因子, 例如SP1、YY1、CREB、MEF2/E-box; 细胞核呼吸因子, 例如NRF-1、NRF-2、REBOX、OXBOX、MT1至MT4; 共激活剂, 例如PGC-1α、PGC-1β、PRC[25]等; (4)现研究表明, AMPK可以促进线粒体的合成[26-27]。

AMPK主要通过直接或间接调节PGC-1α的功能促进线粒体的合成: (1)AMPK通过直接磷酸化PGC-1α的Ser538和Thr177残基促进线粒体的合成[26]。PGC-1α作为一个共转录激活因子, 通过与细胞核呼吸因子1(NRF-1)、细胞核呼吸因子2(NRF2)及ERRA[27]转录因子的相互作用, 进而激活线粒体转录因子A(mtTFA), mtTFA会引起线粒体DNA的复制和转录[28]。NRFs同时会诱导氧化磷酸化(OXPHOS)基因的转录, 使细胞核编码的蛋白转移至线粒体上[29]而促进线粒体的合成; (2)AMPK也可间接调节PGC-1α, 促进线粒体合成。在运动或者营养供给降低时AMP/ATP比率升高, AMPK被激活从而促进线粒体内的脂质氧化, 同时促进尼克酰胺磷酸核糖转移酶(Nampt)的表达, 这些信号会提高细胞内烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)水平, 进而激活沉默信息调节因子1(SIRT1), SIRT1最终催化PGC-1α脱乙酰而使其激活[30], 从而促进线粒体的合成。

所以, AMPK的激活可以促进线粒体的合成, 增加线粒体数量, 并且在长期缺乏能量时, AMPK是线粒体合成所必需的[29]。AMPK促进线粒体合成的基本途径见图2。

3　AMPK与线粒体自噬的关系

自噬是通过双层膜结构的自噬小体的包装对细胞组成成分进行分解代谢的过程, 细胞组成成分如胞浆、细胞器、大分子量蛋白[31], 而线粒体自噬(mitophagy)是细胞选择性地清除体内线粒体的过

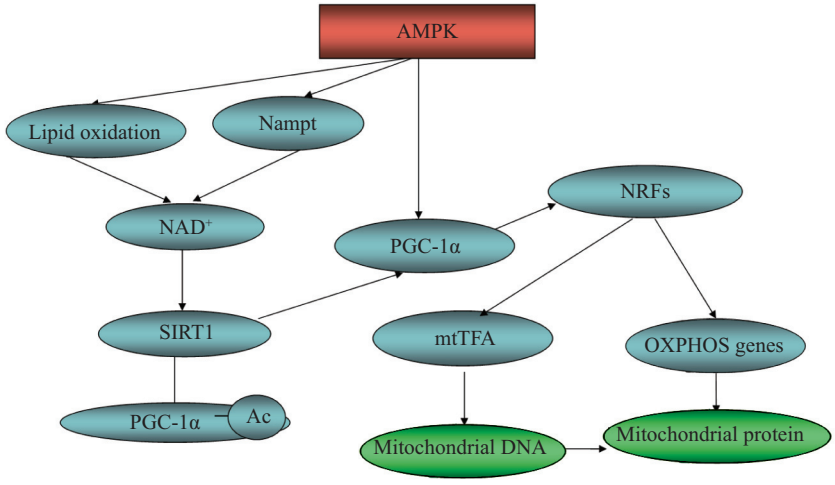

图2　AMPK在线粒体合成中的作用

Fig.2　The role of AMPK in mitochondrial biogenesis

程。线粒体是细胞内产生活性氧的主要场所, 很容易受到氧化性损伤, 因此及时清理受损的线粒体并重复利用线粒体内容物, 对于保存维持细胞产生ATP的能力和产生新线粒体尤为重要。线粒体自噬不仅可以保证线粒体的质量, 也是维持线粒体动态平衡、适应能量代谢和哺乳动物细胞特殊发展阶段所必需的过程, 例如红细胞分化时期线粒体数量的下调[32]就是线粒体自噬为适应哺乳动物细胞特殊发展阶段的一个重要例子。线粒体自噬与许多疾病关系密切, 例如帕金森氏症[33]、老年痴呆症和亨廷顿舞蹈病等神经退行性疾病[34]和进行性肌营养不良[35]等。

自噬的信号通路首先是在出芽酵母中得以确定, 主要组成部分包括: 丝氨酸/苏氨酸激酶Atg1及与它相关联的调节亚基Atg13和Atg17[36]; Atg1可以被mTORC1复合物直接或间接抑制, 而间接抑制作用是通过抑制Atg1的调节亚基实现的[37]。哺乳动物细胞中自噬通路与酵母基本相似, ULK为其自噬泡主要蛋白, 且ULK为Atg1同源蛋白。

线粒体自噬作为细胞自噬的一部分, 与自噬有许多共同点, 但也有不同。线粒体自噬可被多种因素调控: (1)在红细胞分化的哺乳动物中, NIP3类似蛋白NIX(也称作BNIP3, 线粒体外膜蛋白)通过和自噬体蛋白LC3相互作用将线粒体锚定于自噬体[38], 从而调节线粒体自噬; (2)线粒体分裂和融合过程与线粒体自噬密切相关[39]。线粒体分裂不仅可以产生新的线粒体, 也可以通过将残骸聚合并隔离至线粒体的亚单位, 将受损的线粒体分开, 最终通过诱导线粒体自噬将受损的线粒体清除[40]。线粒体融合可以促进线粒体的协作, 也可以通过和其他线粒体交换脂质和蛋白质来减轻周围环境造成的损害, 控制线粒体的质量。目前已知的线粒体融合执行分子主要是线粒体融合蛋白(mitofusin, Mfn), 基因敲除老鼠中Mfn1或Mfn2会导致线粒体片段化[41], 使线粒体受损, 从而促进自噬; (3)在后生动物的许多细胞类型中, Parkin和PTEN诱导的推断蛋白激酶1(PINK1)也可调节线粒体自噬, 当线粒体去极化时, PINK1向线粒体内膜的运输被阻止, 从而PINK1在线粒体外膜变得稳定[42], 在线粒体表面积累的PINK1通过募集Parkin至受损的线粒体而诱导自噬[33], 线粒体融合蛋白1和2被证实是Parkin的底物[43], Parkin通过降解线粒体融合蛋白而阻止线粒体融合, 由此从正常的线粒体中分离出受损的线粒体; (4)糖蛋白78(gp78)可以和Mfn1联合作用, 通过招募LC3至内质网而清除受损的线粒体[44]; (5)近期研究表明: 在线粒体自噬中, 线粒体本身并不仅仅作为一个被清除对象, 同时它也可能参与调节自噬过程: ①一些自噬相关的调节蛋白如ATG4、LC3, 可存在于线粒体外膜, 有可能为自噬体的双膜来源之一; ②自噬调节因子Beclin被发现存在于线粒体, 它与另外一种蛋白AMBRA1 (activating molecule in beclin 1-regulated autophagy)结合后能够促进细胞自噬, 而与Bcl2结合时, 其功能受到抑制[45]。至于在什么时向Beclin结合这两种蛋白, 导向何种细胞功能取向, 尚不清楚。

因线粒体受损和线粒体自噬的异常和一些年龄相关的神经退行性疾病的发生发展有关, 所以, 完善线粒体自噬的作用机制对探索这类疾病的发病机制和可能的治疗措施具有十分重要的意义。目前的研究表明, 线粒体自噬与AMPK的关系十分密切。在缺乏ULK1或AMPK的大鼠肝细胞中, 线粒体会明显的积累, 表明线粒体自噬存在缺陷; AMPK的另一激活剂二甲双胍, 也可以通过激活AMPK引起线粒体自噬[46]; Pauly等[35]也发现, AMPK的另一激活剂AICAR长期治疗可以有效地激活自噬, 并清除有缺陷的线粒体(即线粒体自噬), 同时改善进行性肌营养不良症状, 提高肌肉收缩能力。综上可知, AMPK可以促进线粒体自噬, 及时清除受损的线粒体, 维持其代谢平衡。

目前的资料表明, AMPK对线粒体自噬的调节主要通过Atg1和ULK发挥作用(图3): (1)在出芽酵母和秀丽隐杆线虫中, AMPK通过对Atg1的调节而促

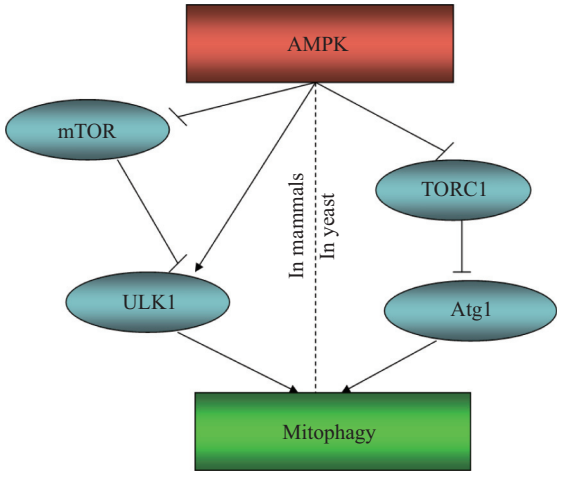

图3 AMPK在线粒体自噬中的作用

Fig.3 The role of AMPK in mitophagy

进自噬。激活的AMPK抑制TORC1复合物, 而后者通过直接磷酸化Atg1阻滞自噬; 因此, AMPK可以通过抑制TORC1而促进自噬[47]。这一作用同样存在哺乳动物, Atg1的相应保守蛋白为ULK1。(2)AMPK也可以直接磷酸化反应作用于ULK1, 形成非常稳定的ULK1和AMPK复合物[48]; 这一作用是通过AMPK直接磷酸化ULK1(hATG1)的Ser555、Thr574和Ser637这三个位点而引起线粒体自噬[49]。

综合以上资料可知, 在合适的细胞状态下, AMPK通过两个交叉的机制调节ULK1以确保ULK1的激活, 促进线粒体自噬; 并且, 在营养缺失条件下AMPK对ULK1的磷酸化是线粒体体内平衡和线粒体自噬所必需的[46]。因此, 激活的AMPK与线粒体自噬具有十分密切的关系, 可以促进线粒体自噬, 清除受损的线粒体, 维持机体线粒体动态平衡。

4 AMPK与内源性凋亡的关系

凋亡大致分为: 外源性凋亡、内源性凋亡和T细胞调节的凋亡。内源性凋亡又称为线粒体调节的凋亡, 其中细胞色素C从线粒体中释放出来是内源性细胞凋亡的关键步骤。细胞受到外界刺激时, 导致细胞内Ca^{2+}或活性氧浓度过高, 引起线粒体外膜通透或Bax从胞浆转移至线粒体内, 进而引起细胞色素C释放至胞浆内, 并与凋亡蛋白酶激活因子1(Apaf-1)和三磷酸腺嘌呤脱氧核苷酸(dATP)形成七聚体复合物即凋亡小体, 激活Caspase-9并引发Caspase凋亡途径, 最终激活Caspase-3并执行凋亡[50]。

研究表明, AMPK的激活会促进多种癌细胞凋亡[51-52], 然而, AMPK在细胞凋亡中的作用是复杂而充满争议的。有研究发现, AICAR(AMPK的激活剂)能诱导凋亡, 但与AMPK是否被激活无关[53]; 而另一项研究则认为AMPK在凋亡中的作用和细胞种类、处理的特异性、刺激的时间和强度以及AMPK下游底物P53等多种因素都有密切关联[54]。尽管如此, AMPK的激活能促进内源性凋亡已得到学术界的认可。AMPK诱导凋亡过程中的许多关键事件都集中于线粒体上, 包括Caspase激活剂(例如细胞色素C)、电子传递的改变、线粒体膜电位的降低、细胞氧化还原的改变、抗凋亡Bcl-2蛋白家族的参与等[55]。Day等[56]的研究发现, 血管紧张素II可通过激活AMPK, 导致细胞色素C的释放以及Caspase-3的激活促进线粒体凋亡; El-Masry等[52]发现, 在T47D、MDA-MB-231(两者均无P53)和MCF-7三株乳腺癌细胞系中, AICAR激活AMPK可以引起线粒体膜去极化, 从而促进线粒体途径的凋亡。在结肠癌HCT-116细胞中, 激活的AMPK可以通过促进线粒体内细胞色素C的释放, 引起线粒体调节的凋亡进而调节厚朴酚的抗癌作用[57]。以上种种证据表明, AMPK的激活可以促进线粒体凋亡。

5 AMPK与ROS的关系

活性氧(reactive oxygen species, ROS)主要产生于线粒体尤其是受损的线粒体, ROS和人类许多慢性疾病有关, 例如糖尿病、神经退行性疾病、肿瘤等。在许多生理状态下, 例如低氧、自噬、免疫细胞功能和细胞分化等情况下, 低剂量的ROS可以作为细胞信号分子, 促进细胞适应应激[58]。并且ROS也是许多细胞防御机制的有效诱导剂[59], 例如线粒体自噬[60]; 并且ROS参与自噬及凋亡, 研究发现, 黄精凝集素(polygonatum cyrtonema lectin, PCL)可以通过ROS-p38-p53信号通路而诱导自噬和凋亡[61]。然而高剂量的ROS会损害脂质、蛋白质和DNA。由此可知, 维持ROS体内平衡尤其重要。

AMPK和ROS之间存在复杂的双重调节关系[62]。一方面, 活性氧通过直接氧化AMPK而引起其激活, 也可以作用于上游蛋白激酶间接激活AMPK; 比如Li等[63]最新研究表明, 线粒体活性氧可以激活AMPK。另一方面, 大量的研究资料显示, AMPK可以通过调节解耦联蛋白(uncoupling proteins, UCPs)和硫氧还原蛋白以及促进自噬等抑制ROS的产生: (1)UCPs属于线粒体阴离子载体蛋白家族成员, 可以促进阴离子在线粒体膜上的转运, 在线粒体ROS的产生中起重要作用[64], 尤其是UCP2通过激活线粒体解耦联可以降低线粒体ROS的产生。而AMPK可以上调线粒体UCP2的表达[65]。(2)Lee等[66]发现, 激活的AMPK可以通过诱导内源性的抗氧化剂硫氧还蛋白抑制ROS, 进而抑制白蛋白诱导的内质网应激。(3)Wang等[54]的研究直接证实了AMPK可以通过调节自噬进而降低线粒体ROS的产生。因此, 也许AMPK与ROS相互调节。活性氧参与线粒体自噬、凋亡、线粒体生物发生以及相关疾病等生理病理过程, 在这些过程中, AMPK起一定作用, 由于篇幅限制, 不在本文中阐述两者在这些过程中的因果关系。

6 AMPK与线粒体疾病的关系

在衰老进程中, 线粒体的活性与衰老相关的神经退行性疾病密切相关。研究表明, 突触可塑性(也即神经元可以重塑)与动物体内轴突终末突触处线粒体的合成增加有关[67], 白藜芦醇通过AMPK依赖通路促进轴突分支和线粒体的合成, 起到维持神经元能量稳态, 进而起到神经保护的作用[68]; 此外, AMPK也可以通过调节自噬而发挥对神经退行性疾病的保护作用[69]。但也有研究表明, AMPK长时间的激活对神经元并没有益处[70]。AMPK与糖尿病尤其是Ⅱ型糖尿病密切相关, 越来越多研究表明线粒体与糖尿病也有着千丝万缕的联系。

帕金森氏症是一种常见的神经退行性运动障碍疾病, 其主要病理改变是脑黑质中多巴胺能神经元的减少。Corti等[71]研究表明, 体内线粒体平衡异常是帕金森病的主要原因。在许多散发性帕金森疾病中, 电子传递链中的复合物I会减少。Sterky等[72]发现, 在适度缺乏复合物I的小鼠模型中, 纹状体多巴胺更新速率增加, 纹状体神经元轴突终末多巴胺释放减少; 同时他们认为多巴胺释放受损可能正是线粒体受损的早期结果。此外, 与帕金森疾病相关的一些基因与线粒体也密切相关。早在1998年, *parkin*基因已被证实为常染色体隐性遗传性帕金森症的致病基因[73], 而Parkin被证明可以诱导PARIS(parkin-interacting substrate, 为PGC-1α的转录抑制子)蛋白酶体的降解[74], 因此Parkin功能的失活可以抑制线粒体的合成。*PINK1*也被证实为帕金森症的致病基因, 并且PINK1被认为是线粒体转运的分子开关。而如前所述, *parkin*与*PINK1*还可共同协作促进受损线粒体的清除[75]。Ng等[76]研究表明, 与*parkin*和*LRRK2*基因相关的帕金森病与线粒体功能紊乱有关。在存在*parkin*和*LRRK2*突变的苍蝇体内, 没食子酸可以明显的抑制多巴胺和线粒体功能的紊乱, 而没食子酸的保护作用依赖于AMPK酶活性, 当AMPK从遗传学角度失活时, 没食子酸的保护效果会彻底消除, 通过直接的药理或遗传方式激活AMPK时会恢复没食子酸的保护效果[76]。综上所述, AMPK可以通过维持线粒体功能进而缓解帕金森疾病症状。

AMPK、线粒体均与糖尿病有关。线粒体和糖尿病的联系首先在罕见的母系遗传糖尿病并发症耳聋病人中发现, 在此病人中发现编码线粒体tRNA的10.4 Kb线粒体DNA缺失[77]。线粒体数量的减少是线粒体活性下降的主要因素, 由于线粒体数量减少, 遗传性的线粒体功能紊乱会加剧胰岛素耐受和胰岛素耐受伴随Ⅱ型糖尿病(T2DM)的进展[29]。在患有冠状动脉疾病和Ⅱ型糖尿病的病人中, 线粒体参与内皮细胞功能的紊乱, 病人内皮细胞内线粒体活性氧(mtROS)增加, 并且mtROS的增加会进一步导致AMPK活性的增加[78]。此外, 众所周知, Ⅱ型糖尿病主要的风险为胰岛素耐受, 而AMPK临床上已作为提高胰岛素敏感性的药物靶点, 例如二甲双胍, 而二甲双胍正是通过抑制线粒体呼吸链复合物进而抑制ATP的合成从而激活AMPK发挥作用的。不仅AMPK可以作为提高胰岛素敏感性的靶标, 线粒体功能的抑制也可作为提高胰岛素敏感性的策略, 由此线粒体抑制剂可能成为开发糖尿病新药物的靶点[79]。

7 前景和展望

线粒体是细胞能量工厂, 并且为细胞内合成代谢提供前体物质, 而AMPK作为细胞能量感受器, 二者之间存在着密切的关系, 它们的相互作用与人类的健康与疾病发展密切相关。一方面, AMPK的激活刺激线粒体的再生; 另一方面, 它又促进衰老线粒体进入自噬这一动态过程, 维持细胞内线粒体数量的平衡。一旦某种原因导致线粒体失去了这种平衡, 细胞内必定产生过多的活性氧而激活细胞凋亡, 例如线粒体产生过多或自噬减弱等。另外, 肿瘤细胞主要靠糖酵解来维持细胞代谢所需的能量, 而线粒体能够提供合成代谢的中间产物例如丙酮酸、柠檬酸、乙酰辅酶A和NADPH等, 因此, AMPK能通过改变线粒体数量和功能改变细胞的代谢形式而起到抑制肿瘤细胞生长的作用。因此, 了解AMPK和线粒体两者之间的关系, 不仅有助于癌症的研究, 也为其他疾病如神经退行性疾病的防治提供依据和手段[80]。然而, 目前我们对AMPK如何调节线粒体, 大部分限于线粒体的再生, AMPK是否可以直接结合到线粒体, 作用线粒体本身编码的蛋白或由核基因编码的蛋白, 目前所知甚浅。并且, AMPK作为能量感受器和调节器, 在细胞自噬过程中, 如何介导线粒体和自噬体之间的关系, 也是一个非常有趣并值得探讨的问题。

参考文献 (References)

1 Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMP-activated protein kinase: A target for drugs both ancient and modern. Chem Biol 2012;

19(10): 1222-36.
2 Oakhill JS, Steel R, Chen ZP, Scott JW, Ling N, Tam S, *et al*. AMPK is a direct adenylate charge-regulated protein kinase. Science 2011; 332(6036): 1433-5.
3 Herrero-Martin G, Hoyer-Hansen M, Garcia-Garcia C, Fumarola C, Farkas T, Lopez-Rivas A, *et al*. TAK1 activates AMPK-dependent cytoprotective autophagy in TRAIL-treated epithelial cells. EMBO J 2009; 28(6): 677-85.
4 Hurley RL, Anderson KA, Franzone JM, Kemp BE, Means AR, Witters LA. The Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase kinases are AMP-activated protein kinase kinases. J Biol Chem 2005; 280(32): 29060-6.
5 Collins SP, Reoma JL, Gamm DM, Uhler MD. LKB1, a novel serine/threonine protein kinase and potential tumour suppressor, is phosphorylated by cAMP-dependent protein kinase (PKA) and prenylated *in vivo*. Biochem J 2000; 345 Pt 3: 673-80.
6 Martin M, Marais R. Metformin: A diabetes drug for cancer, or a cancer drug for diabetics? J Clin Oncol 2012; 30(21): 2698-700.
7 Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 2009; 324(5930): 1029-33.
8 Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. Nat Rev Cancer 2011; 11(2): 85-95.
9 Faubert B, Boily G, Izreig S, Griss T, Samborska B, Dong Z, *et al*. AMPK is a negative regulator of the Warburg effect and suppresses tumor growth *in vivo*. Cell Metab 2013; 17(1): 113-24.
10 Lane N, Martin W. The energetics of genome complexity. Nature 2010; 467(7318): 929-34.
11 Gaston D, Tsaousis AD, Roger AJ. Predicting proteomes of mitochondria and related organelles from genomic and expressed sequence tag data. Methods Enzymol 2009; 457: 21-47.
12 Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. Cell 2012; 148(6): 1145-59.
13 Suomalainen A. Therapy for mitochondrial disorders: Little proof, high research activity, some promise. Semin Fetal Neonatal Med 2011; 16(4): 236-40.
14 Hardie DG. AMP-activated protein kinase: An energy sensor that regulates all aspects of cell function. Genes Dev 2011; 25(18): 1895-908.
15 Hardie DG. AMP-activated protein kinase: A cellular energy sensor with a key role in metabolic disorders and in cancer. Biochem Soc Trans 2011; 39(1): 1-13.
16 Luo Z, Zang M, Guo W. AMPK as a metabolic tumor suppressor: Control of metabolism and cell growth. Future Oncol 2010; 6(3): 457-70.
17 Kerner J, Hoppel C. Fatty acid import into mitochondria. Biochim Biophys Acta 2000; 1486(1): 1-17.
18 李洁琼, 郑世学, 喻子牛, 张吉斌. 乙酰辅酶A羧化酶: 脂肪酸代谢的关键酶及其基因克隆研究进展. 应用与环境生物学 报(Li Jieqiong, Zhen Shixue, Yu Ziniu, Zhang Jibin. Acetyl-coenzyme A carboxylase: A key metabolic enzyme of fatty acid and progress of its clone. Chinese Journal of Applied And Environmental Biology) 2011; 17(5): 753-8.
19 Saha AK, Ruderman NB. Malonyl-CoA and AMP-activated protein kinase: An expanding partnership. Mol Cell Biochem 2003; 253(1/2): 65-70.
20 Muoio DM, Seefeld K, Witters LA, Coleman RA. AMP-activated kinase reciprocally regulates triacylglycerol synthesis and fatty acid oxidation in liver and muscle: Evidence that sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase is a novel target. Biochem J 1999; 338(Pt 3): 783-91.
21 Vazquez-Martin A, Corominas-Faja B, Cufi S, Vellon L, Oliveras-Ferraros C, Menendez OJ, *et al*. The mitochondrial H^+-ATP synthase and the lipogenic switch: New core components of metabolic reprogramming in induced pluripotent stem (iPS) cells. Cell Cycle 2013; 12(2): 207-18.
22 Roy D, Felty Q, Narayan S, Jayakar P. Signature of mitochondria of steroidal hormones-dependent normal and cancer cells: Potential molecular targets for cancer therapy. Front Biosci 2007; 12: 154-73.
23 Lopez-Lluch G, Irusta PM, Navas P, de Cabo R. Mitochondrial biogenesis and healthy aging. Exp Gerontol 2008; 43(9): 813-9.
24 Navarro A, Boveris A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. Am J Physiol Cell Physiol 2007; 292(2): C670-86.
25 Goffart S, Wiesner RJ. Regulation and co-ordination of nuclear gene expression during mitochondrial biogenesis. Exp Physiol 2003; 88(1): 33-40.
26 Jager S, Handschin C, St-Pierre J, Spiegelman BM. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1alpha. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(29): 12017-22.
27 Mootha VK, Handschin C, Arlow D, Xie X, St Pierre J, Sihag S, *et al*. Erralpha and Gabpa/b specify PGC-1alpha-dependent oxidative phosphorylation gene expression that is altered in diabetic muscle. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101(17): 6570-5.
28 Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, *et al*. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. Cell 1999; 98(1): 115-24.
29 Reznick RM, Shulman GI. The role of AMP-activated protein kinase in mitochondrial biogenesis. J Physiol 2006; 574(Pt 1): 33-9.
30 Canto C, Jiang LQ, Deshmukh AS, Mataki C, Coste A, Lagouge M, *et al*. Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle. Cell Metab 2010; 11(3): 213-9.
31 Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, Ohsumi Y. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: Lessons from yeast. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10(7): 458-67.
32 Youle RJ, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. Nat Rev Mol Cell Biol 2011; 12(1): 9-14.
33 Palikaras K, Tavernarakis N. Mitophagy in neurodegeneration and aging. Front Genet 2012; 3: 297.
34 Batlevi Y, La Spada AR. Mitochondrial autophagy in neural function, neurodegenerative disease, neuron cell death, and aging. Neurobiol Dis 2011; 43(1): 46-51.
35 Pauly M, Daussin F, Burelle Y, Li T, Godin R, Fauconnier J, *et al*. AMPK activation stimulates autophagy and ameliorates muscular dystrophy in the mdx mouse diaphragm. Am J Pathol 2012; 181(2): 583-92.
36 Mizushima N, Levine B. Autophagy in mammalian development and differentiation. Nat Cell Biol 2010; 12(9): 823-30.
37 Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. Nat Cell Biol 2011; 13(9): 1016-23.
38 Novak I, Kirkin V, McEwan DG, Zhang J, Wild P, Rozenknop

A, *et al*. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance. EMBO Rep 2010; 11(1): 45-51.

39 Youle RJ, van der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. Science 2012; 337(6098): 1062-5.

40 Kim I, Lemasters JJ. Mitophagy selectively degrades individual damaged mitochondria after photoirradiation. Antioxid Redox Signal 2011; 14(10): 1919-28.

41 Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. J Cell Biol 2003; 160(2): 189-200.

42 Lazarou M, Jin SM, Kane LA, Youle RJ. Role of PINK1 binding to the TOM complex and alternate intracellular membranes in recruitment and activation of the E3 ligase Parkin. Dev Cell 2012; 22(2): 320-33.

43 Rakovic A, Grunewald A, Kottwitz J, Bruggemann N, Pramstaller PP, Lohmann K, *et al*. Mutations in PINK1 and Parkin impair ubiquitination of Mitofusins in human fibroblasts. PLoS One 2011; 6(3): e16746.

44 Fu M, Pierre PS, Shankar J, Wang PT, Joshi B, Nabi IR. Regulation of Mitophagy by the Gp78 E3 Ubiquitin Ligase. Mol Biol Cell 2013; 24(8):1153-62.

45 Okamoto K, Kondo-Okamoto N. Mitochondria and autophagy: Critical interplay between the two homeostats. Biochim Biophys Acta 2012; 1820(5): 595-600.

46 Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, Gelino S, Kohnz RA, Mair W, *et al*. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. Science 2011; 331(6016): 456-61.

47 Kamada Y, Yoshino K, Kondo C, Kawamata T, Oshiro N, Yonezawa K, *et al*. Tor directly controls the Atg1 kinase complex to regulate autophagy. Mol Cell Biol 2010; 30 (4): 1049-58.

48 Behrends C, Sowa ME, Gygi SP, Harper JW. Network organization of the human autophagy system. Nature 2010; 466(7302): 68-76.

49 Hardie DG. AMPK and autophagy get connected. EMBO J 2011; 30(4): 634-5.

50 Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, Puig PE, Didelot C, Kroemer G. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. Cell Death Differ 2006; 13(9): 1423-33.

51 Accordi B, Galla L, Milani G, Curtarello M, Serafin V, Lissandron V, *et al*. AMPK inhibition enhances apoptosis in MLL-rearranged pediatric B-acute lymphoblastic leukemia cells. Leukemia 2012; 27(5):1019-27.

52 El-Masry OS, Brown BL, Dobson PR. Effects of activation of AMPK on human breast cancer cell lines with different genetic backgrounds. Oncol Lett 2012; 3(1): 224-8.

53 Santidrian AF, Gonzalez-Girones DM, Iglesias-Serret D, Coll-Mulet L, Cosialls AM, de Frias M, *et al*. AICAR induces apoptosis independently of AMPK and p53 through up-regulation of the BH3-only proteins BIM and NOXA in chronic lymphocytic leukemia cells. Blood 2010; 116(16): 3023-32.

54 Wang S, Song P, Zou MH. AMP-activated protein kinase, stress responses and cardiovascular diseases. Clin Sci (Lond) 2012; 122(12): 555-73.

55 Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. Science 1998; 281(5381): 1309-12.

56 Day RM, Lee YH, Han L, Kim YC, Feng YH. Angiotensin II activates AMPK for execution of apoptosis through energy-dependent and -independent mechanisms. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2011; 301(5): L772-81.

57 Park JB, Lee MS, Cha EY, Lee JS, Sul JY, Song IS, *et al*. Magnolol-induced apoptosis in HCT-116 colon cancer cells is associated with the AMP-activated protein kinase signaling pathway. Biol Pharm Bull 2012; 35(9): 1614-20.

58 Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. Mol Cell 2012; 48(2): 158-67.

59 Schon EA, Przedborski S. Mitochondria: the next (neurode)generation. Neuron 2011; 70(6): 1033-53.

60 Wang Y, Nartiss Y, Steipe B, McQuibban GA, Kim PK. ROS-induced mitochondrial depolarization initiates PARK2/PARKIN-dependent mitochondrial degradation by autophagy. Autophagy 2012; 8(10): 1462-76.

61 Liu B, Cheng Y, Zhang B, Bian HJ, Bao JK. Polygonatum cyrtonema lectin induces apoptosis and autophagy in human melanoma A375 cells through a mitochondria-mediated ROS-p38-p53 pathway. Cancer Lett 2009; 275(1): 54-60.

62 Cardaci S, Filomeni G, Ciriolo MR. Redox implications of AMPK-mediated signal transduction beyond energetic clues. J Cell Sci 2012; 125(Pt 9): 2115-25.

63 Li L, Chen Y, Gibson SB. Starvation-induced autophagy is regulated by mitochondrial reactive oxygen species leading to AMPK activation. Cell Signal 2013; 25(1): 50-65.

64 Leloup C, Casteilla L, Carriere A, Galinier A, Benani A, Carneiro L, *et al*. Balancing mitochondrial redox signaling: A key point in metabolic regulation. Antioxid Redox Signal 2011; 14(3): 519-30.

65 Xie Z, Zhang J, Wu J, Viollet B, Zou MH. Upregulation of mitochondrial uncoupling protein-2 by the AMP-activated protein kinase in endothelial cells attenuates oxidative stress in diabetes. Diabetes 2008; 57(12): 3222-30.

66 Lee EK, Jeong JU, Chang JW, Yang WS, Kim SB, Park SK, *et al*. Activation of AMP-activated protein kinase inhibits albumin-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis through inhibition of reactive oxygen species. Nephron Exp Nephrol 2012; 121(1/2): e38-48.

67 Briones TL, Suh E, Jozsa L, Rogozinska M, Woods J, Wadowska M. Changes in number of synapses and mitochondria in presynaptic terminals in the dentate gyrus following cerebral ischemia and rehabilitation training. Brain Res 2005; 1033(1): 51-7.

68 Dasgupta B, Milbrandt J. Resveratrol stimulates AMP kinase activity in neurons. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(17): 7217-22.

69 Vingtdeux V, Chandakkar P, Zhao H, d'Abramo C, Davies P, Marambaud P. Novel synthetic small-molecule activators of AMPK as enhancers of autophagy and amyloid-beta peptide degradation. FASEB J 2011; 25(1): 219-31.

70 Ronnett GV, Ramamurthy S, Kleman AM, Landree LE, Aja S. AMPK in the brain: Its roles in energy balance and neuroprotection. J Neurochem 2009; 109 Suppl 1: 17-23.

71 Corti O, Lesage S, Brice A. What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease. Physiol Rev 2011; 91(4): 1161-218.

72 Sterky FH, Hoffman AF, Milenkovic D, Bao B, Paganelli A, Edgar D, *et al*. Altered dopamine metabolism and increased vulnerability to MPTP in mice with partial deficiency of mitochondrial complex I in dopamine neurons. Hum Mol Genet 2012; 21(5):

1078-89.

73 Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, *et al*. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. Nature 1998; 392(6676): 605-8.

74 Shin JH, Ko HS, Kang H, Lee Y, Lee YI, Pletinkova O, *et al*. PARIS (ZNF746) repression of PGC-1alpha contributes to neurodegeneration in Parkinson's disease. Cell 2011; 144(5): 689-702.

75 Exner N, Lutz AK, Haass C, Winklhofer KF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: Molecular mechanisms and pathophysiological consequences. EMBO J 2012; 31(14): 3038-62.

76 Ng CH, Guan MS, Koh C, Ouyang X, Yu F, Tan EK, *et al*. AMP kinase activation mitigates dopaminergic dysfunction and mitochondrial abnormalities in Drosophila models of Parkinson's disease. J Neurosci 2012; 32(41): 14311-7.

77 Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, *et al*. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. Nat Genet 1992; 1(1): 11-5.

78 Mackenzie RM, Salt IP, Miller WH, Logan A, Ibrahim HA, Degasperi A, *et al*. Mitochondrial reactive oxygen species enhance AMP-activated protein kinase activation in the endothelium of patients with coronary artery disease and diabetes. Clin Sci (Lond) 2013; 124(6): 403-11.

79 Zhang Y, Ye J. Mitochondrial inhibitor as a new class of insulin sensitizer. Acta Pharm Sin B 2012; 2(4): 341-49.

80 Lee MS, Lee CM, Cha EY, Thuong PT, Bae K, Song IS, *et al*. Activation of AMP-activated protein kinase on human gastric cancer cells by apoptosis induced by corosolic acid isolated from Weigela subsessilis. Phytother Res 2010; 24(12): 1857-61.