

AMPK 对细胞增殖的调控作用

焦显芹, 崔锦, 李梦云* (1. 郑州市现代农业科技服务中心, 河南郑州 450000; 2. 郑州牧业工程高等专科学校, 河南郑州 450011)

摘要 综述了 AMPK 的结构、活性调节, AMPK 调控细胞周期的途径与机理, 为在应激的条件下如何保持动物健康的研究提供思路。

关键词 AMPK; 结构; 活性调节; 细胞增殖

中图分类号 S814.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)30-13169-03

Regulatory Effect of AMPK on Cell Proliferation

JIAO Xian-qin et al (The Modern Agricultural Development Centre of Science and Technology of Zhengzhou City, Zhengzhou, Henan 450000)

Abstract Structure and the activity regulation of AMPK were reviewed as well as the route and mechanism of cell cycle regulation by AMPK, which offered a kind of thought for the study on how to keep animal from disease under stress condition.

Key words AMPK; Structure; Activity regulation; Cell proliferation

一磷酸腺苷激活蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)是一种能被 AMP 激活的蛋白激酶,在动物应激(生理、营养、环境和疾病等)过程中起着重要作用^[1]。在动物应激时,被激活的 AMPK 主要通过改变机体内脂类和碳水化合物代谢,使其朝着抑制 ATP 消耗、促进 ATP 生成的方向进行,使细胞能量得到迅速恢复,从而对细胞 ATP 耗尽作出反应^[2]。但最近的研究表明,AMPK 对细胞增殖也有调控作用,通过负调控细胞周期的进程,从而抑制肿瘤细胞的增殖^[3]。

1 AMPK 的结构

AMPK 是由催化亚基、调节亚基和构成的异源三聚体。亚基分子量为 63 kD,含有一个 N 端激酶结构域和一个 C 端结构域,两者大小基本相等,N 端是催化核心部位,有典型的丝氨酸/苏氨酸激酶结构域,C 端负责与和亚基结合,含有变构结合位点参与和 AMP 的结合,N 端和 C 端功能区内还存在一个自抑制体区域(autoinhibitory domain, AI),它能使亚基保持在无活性状态。亚基有 1 和 2 两种同工型。其中 1 广泛分布于全身各组织中,主要位于细胞质中; 2 主要分布在骨骼肌、心脏和肝脏中,且大部分位于细胞核内^[4]。亚基分子量为 40 kD,其中心区域有一个糖原结合域(glycogen-binding domain, GBD),该结构域使 AMPK 的近端与其作用底物之一糖原合成酶结合,从而调控糖原代谢。另外,亚基 N 端的十四烷酰化序列对蛋白质具有固定的作用,对 AMPK 活性的调控也有重要作用,为形成稳定有活性的复合物所必需^[5]。亚基有 1 和 2 两种同工型,1 具有广泛的组织分布性,而 2 主要分布在骨骼肌、心脏和胰腺中^[6]。亚基分子量为 35 kD,其 C 端含有 4 个胱硫醚-合酶(cystathionine-synthase, CBS)结构域,这 4 个 CBS 结构域在所有亚基中高度保守,其主要作用是参与细胞质的导向、蛋白与蛋白的相互作用和蛋白质活性的调节。亚基有 1、2、和 3 三种同工型。1 和 2 分布较广,而 3 只特异性地在骨骼肌中表达^[7]。

2 AMPK 的活性调节

AMPK 在体内被其上游的一个或多个 AMPKK 激活,

AMPKK 主要通过磷酸化 AMPK 亚基上的 Thr-172 来激活 AMPK。在活性状态下,AMPKK 磷酸化 Thr-172,此时、亚基与亚基结合,通过解除亚基的自体抑制区,从而激活 AMPK。而在无活性状态下,由于蛋白磷酸化酶 PP2A 或 PP2C 的作用,亚基不被磷酸化,而且因为 / 不与亚基结合,亚基通过其自体抑制区锁住了 AMPKK 对 Thr-172 的磷酸化作用。另外,AMPK 的活性也受 AMP 的调控。当体内能量被耗竭,细胞内腺苷三磷酸(ATP)水平降低、AMP 增加时,AMPK 的活性就升高。所以 AMP 是 AMPK 的特异性激活剂。此外,5-氨基-4-咪唑羧基酰胺核苷(5-amino-4-imidazolecarboxamide, AICAR)在动物体内被腺苷激酶催化形成其单核苷酸衍生物 ZMP,后者对 AMPK 具有类似 AMP 的激活效应,因而 AICAR 也被视为 AMPK 的特异性激活剂^[7]。

在骨骼肌中 AMPK 还可被高浓度的肌酸激活而被高浓度的磷酸肌酸抑制^[8]。磷酸肌酸是骨骼肌和其他一些细胞的短期能量贮存器,用于快速生成 ATP^[9]。由于肌肉收缩过程中,磷酸肌酸浓度降低,肌酸/磷酸肌酸比值增加,AMPK 被活化,因此在短期以及强度不大的运动中磷酸肌酸可能是比 AMP 更重要的 AMPK 系统的调节剂。由于蛋白磷酸化酶 PP2A 或 PP2C 可阻止亚基不被磷酸化,而且因为 / 不与亚基结合,亚基通过其自体抑制区锁住了 AMPKK 对 Thr-172 的磷酸化作用,因此,PP2A 或 PP2C 使 AMPK 的活性降低。最近研究表明,抗糖尿病药物盐酸二甲双胍(metformin)可以激活 AMPK。体外和体内试验均表明,metformin 可激活 AMPK,作为一种降糖药物,其降低肝脏中葡萄糖的产生、增加肝中脂肪酸的氧化以及促进骨骼肌中葡萄糖的吸收^[10]都是通过激活 AMPK 来介导实现的。

3 细胞周期及其调控

细胞周期也称细胞分裂周期,是指一个细胞经生长、分裂而增殖成 2 个所经历的全过程,通常可分为 4 个阶段,即 G₁ 期、S 期、G₂ 期和 M 期。细胞在 G₁ 期完成必要的生长和物质准备,在 S 期完成其遗传物质-染色体 DNA 的复制,在 G₂ 期进行必要的检查及修复以保证 DNA 复制的准确性,然后在 M 期完成遗传物质到子细胞中的均等分配,并使细胞一分为二。细胞周期蛋白(cyclin)是调节细胞周期活动的重要蛋白质,它与细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)和细胞周期依赖性激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitors, CDKIs)共同参与细胞周期的调控。研究表明,

作者简介 焦显芹(1970-),女,山东曹县人,畜牧师,从事家禽资源管理方面的研究。* 通讯作者。

收稿日期 2008-08-04

细胞周期进程受 CDK 和细胞周期蛋白群正调控,受 CDKs 和肿瘤抑制基因 p53 负调控^[11]。细胞有丝分裂因子与受体结合后促进一些列的反应,激活 CDKs,进而调控细胞周期进程,包括 DNA 合成、增殖和有丝分裂。尽管不同的生长因子利用不同的信号途径促进 DNA 合成,但都是通过细胞周期下游调控子如 CDKs 和 CDKIs 起作用,导致细胞周期转换的最后途径是 CDK 诱导的 Rb 基因产物高度磷酸化,导致解除转录因子(transcription factor2, T2F),进而诱导细胞进程中 S、G₂ 和 M 期中的基因表达^[12]。肿瘤抑制因子 p53 是目前研究最多、最深入的抑癌基因之一,与细胞周期的调控、DNA 修复、细胞分化、细胞凋亡等重要生物学功能有关,其突变和丢失是肿瘤基因的重要标志。p53 的表达及其功能受其磷酸化状态调控,细胞应激如 辐射和葡萄糖消耗,都可诱导 p53 在 Ser-15 磷酸化^[13],从而诱导细胞生长的停止或细胞凋亡^[14]。

4 AMPK 调控细胞周期的主要途径

4.1 通过增量调节 p53-p21 轴,使细胞周期停滞 研究表明,通过 AICAR 激活 AMPK 可引起肝细胞瘤 HepG₂ 细胞、周期停滞小鼠胚胎成纤维细胞等细胞周期停滞。Igata 等报道,血管平滑肌中 AMPK 的激活可导致 G₁ 期细胞周期的停滞,抑制细胞增殖,因而可阻止或治疗血管增生疾病^[15]。Rattan 等的体外和体内试验均表明,通过 AICAR 激活 AMPK 都提高了 p21^{CP}、p27^{KIP} 和 p53 蛋白表达量,从而抑制各类癌细胞的增殖^[16]。值得注意的是,AICAR 在正常型和 LKB1 敲除小鼠中均可抑制胚胎成纤维细胞的增殖,AMPK 可调控肿瘤抑制基因 lkb1(编码蛋白激酶 LKB1),而 AICAR 是 AMPK 活性的重要调节因子,这表明 AICAR 本身可能对抑制肿瘤细胞的生长具有重要的作用。

激活 AMPK 抑制细胞增殖的机理可能在于,激活 AMPK 可引起肿瘤抑制因子 p53 蛋白在 Ser-15 位点磷酸化而引起 p53 蛋白累积,进而增加 CDKIs 和 p21^{CP} 蛋白表达量,p53 蛋白在 Ser-15 位点磷酸化是受 AMPK 单独调控还是受另一激酶的调控或者是两者共同作用的结果,目前还不得而知。

Zhuang 和 Mskimirs 报道一种治疗糖尿病的药物 Metformin 可显著抑制肿瘤细胞的增殖^[17]。他们用 8 mmol/L 的 metformin 培育乳腺肿瘤 MCF7 细胞,结果发现 metformin 可显著抑制肿瘤细胞的增殖,Western blotting 分析表明,metformin 可急剧降低细胞周期 cyclin D1 蛋白表达量,同时 cyclin D1 mRNA 也降低,而对其他细胞周期调控子没有影响。同时他们还发现 metformin 处理 MCF7 细胞后,可导致 AMPK 活性增加,而 AKT 降低,因此,他们得出结论,metformin 通过降低 cyclin D1 mRNA 和蛋白水平来抑制肿瘤细胞的增殖,其可能的机制是激活 AMPK 或者是抑制 AKT 的信号途径来介导的。

4.2 通过 LKB1 抑制细胞增殖 LKB1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 lkb1 基因产物,该基因在普杰二氏综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)病人中发生基因突变,引起 LKB1 失去功能,此时黏膜和皮肤发生黑色素沉着,胃肠息肉,显著提高肿瘤几率^[18]。同时,在 2 种肝癌细胞 HeLa 和 G361 中,LKB1 不表达,而当 LKB1 过量表达时,可通过诱导 G₁ 细胞周期停滞而抑制细胞增殖^[19],因此,LKB1 具有抑制生长和抗肿瘤

的功能。LKB1 在黑色素瘤细胞 G361 中还与 p53 结合,诱导 p21^{CP} 增加,以依赖 p53 的方式抑制细胞增殖,这进一步表明 LKB1 是一种肿瘤抑制因子。最近有研究表明,LKB1 可磷酸化 AMPK,是一种 AMPK 必需的生理激活剂,LKB1 在 Thr-172 位点磷酸化 AMPK,若 LKB1 不能磷酸化 AMPK,则削弱 AMPK 的下游信号途径,若锁住细胞中 LKB1 活性,则废去了各种激活剂对 AMPK 激活,转基因小鼠骨骼肌和心脏中 LKB1 的缺乏,可阻止收缩诱导的 AMPK 的激活,降低葡萄糖的吸收。另外,肝脏中 LKB1 缺失,可使 AMPK 活性几乎完全散失,可导致高血糖,葡萄糖异生作用和生脂基因表达量增加^[20]。这些结果清楚地表明 LKB1 是一种重要的 AMPK 上游激活剂。Ouchi 等^[21]报道,通过 adiponectin 激活 AMPK 可增强 Akt 的信号转导,Motoshina 等观察到,用 AICAR 处理血管内皮细胞和平滑肌细胞而引起的 AMPK 激活,可延缓 Akt 的磷酸化。关于 LKB1 与 AMPK 信号转导之间的关系以及 AMPK 在细胞增殖中的作用还有待于进一步的研究。

4.3 通过抑制 mTOR 活性来抑制细胞增殖 哺乳动物的雷帕霉素靶体(mammalian target of rapamycin, mTOR)是保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是调控 mRNA 翻译的启动因子,调控细胞生长和细胞分化^[22],mTOR 结合营养和促细胞分裂剂信号调控细胞生长和细胞分裂,mTOR 途径被氨基酸和生长因子如 PDGF、表皮生长因子(EGF)以及胰岛素激活,刺激蛋白质合成,细胞生长和增殖。生长因子激活的 mTOR 可促进其下游子核糖体蛋白 S6 激酶 1(p70^{S6K})和转录起始因子 4E 结合蛋白 1(elongation factor 4 binding protein, 4EBP1)的表达量增加,从而调控翻译的开始步骤^[23]。而营养耗竭可抑制其介导的信号通路,从而抑制蛋白质合成及细胞增殖。

有研究表明 AMPK 和 mTOR 信号通路相关联,AMPK 的激活将抑制 mTOR 及其效应器。AMPK 可能通过调节 mTOR 通路从而抑制蛋白质合成。Herman 等报道,在缺氧或 AICAR 处理的肝细胞中 AMPK 可能通过激活真核延长因子 2(eukaryotic elongation factor 2, eEF2)激酶使 eEF-2 磷酸化失活导致蛋白质合成受抑制^[24]。Kimura 等用 AMPK 的激活剂 AICAR 处理肉瘤病毒 40 感染的人类角膜上皮细胞,发现抑制 p70S6K 活性,而且使 AMPK 在兔肺成纤维细胞中过量表达时,也调控 p70S6K 活性,相反,当用 AMPK 的抑制剂处理时,p70S6K 活性增加,这表明 AMPK 调控 mTOR 及其下游因子^[25]。

4.4 通过脂肪酸的合成来影响细胞增殖 许多肿瘤细胞都表现出显著的脂肪酸重新合成增加,除了产生脂肪的细胞外,其他细胞正常状态下有较低的脂肪合成。目前的研究表明,人类肿瘤以及瘤前病变表现为脂肪酸合成酶(FAS)过量表达,FAS 是脂肪酸合成过程中的限速酶,肿瘤细胞中的脂肪酸合成酶表达水平与肿瘤的类型有关,抑制 FAS 可以抑制肿瘤细胞的增殖,诱导其凋亡。因此,抑制 FAS 活性或抑制其表达已经变成药物治疗恶性肿瘤的明确目标^[26]。而有研究表明,活化 AMPK 可抑制 FAS 基因的表达,而且肝细胞中 AICAR 和 metformin 活化 AMPK 均可抑制 FAS 的 mRNA 丰度,从而抑制肿瘤细胞增殖^[27]。

5 展望

已经证明 AMPK 通过调控细胞周期中 p53-p21 轴、TSC2-

mTOR 和 FAS 基因表达等途径,来抑制蛋白质和脂肪的合成,从而抑制肿瘤细胞的增殖,但其更详细的生理生化机制以及在临床动物上的应用还需进一步研究。AMPK 对肿瘤细胞调控作用的深入研究将使其成为治疗恶性肿瘤的明确目标,这对保护动物健康,特别是对人类疾病的研究及诊断具有深远的意义。

参考文献

- [1] PARKS H, GAMMONS R, KNIPPERS J D, et al. Phosphorylation activity relationships of AMPK and acetyl-CoA carboxylase in muscle[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92: 2475 - 2482.
- [2] HARDE D G, CARLING D. The AMP activated protein kinase — fuel gauge of the mammalian cell[J]. *Eur J Biochem*, 1997, 246: 259 - 273.
- [3] MOTOSHIMA H, GOLDSTEIN B J, IGATA M, et al. AMPK and cell proliferation: AMPK as a therapeutic target for atherosclerosis and cancer[J]. *J Physiol*, 2006, 574: 63 - 71.
- [4] TURNLEY A M, STAPLETON D, MANN R J, et al. Cellular distribution and developmental expression of AMP activated protein kinase isoforms in mouse central nervous system[J]. *J Neurochem*, 1999, 72(4): 1707 - 1716.
- [5] HUDSON E R, PANDA A, JAMES J, et al. A novel domain in AMP activated protein kinase causes glycogen storage bodies similar to those seen in hereditary cardiac arrhythmias[J]. *Curr Biol*, 2003, 13(10): 861 - 866.
- [6] THORNTON C, SNOWDEN M A, CARLING D. Identification of a novel AMP activated protein kinase beta subunit isoform that is highly expressed in skeletal muscle[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(20): 12443 - 12450.
- [7] CHEUNG P C, SALT I P, DAMES S P, et al. Characterization of AMP activated protein kinase gamma subunit isoforms and their role in AMP binding[J]. *Bochem*, 2000, 346: 659 - 669.
- [8] PCNICOS M, LUQ L, MORGAN J E, et al. Dual regulation of the AMP activated protein kinase provides a novel mechanism for the control of creatine kinase in skeletal muscle[J]. *The EMBO Journal*, 1998, 17: 1688 - 1699.
- [9] WALLIMANN T. Dissecting the role of creatine kinase[J]. *Curr Biol*, 1994, 4: 42 - 46.
- [10] MUI N, HRSHMAN M F, NYGREN J, et al. Metformin increases AMP activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2002, 51: 2074 - 2081.
- [11] GRANA X, REDDY E P. Cell cycle control in mammalian cells: Role of cyclins, cyclin dependent kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin dependent kinase inhibitors (CKIs)[J]. *Oncogene*, 1995, 11: 211 - 219.
- [12] WEINBERG R A. The retinoblastoma protein and cell cycle control[J]. *Cell*,

1995, 81: 323 - 330.

- [13] SHEH S Y, IKEDA M, PRIVES C. DNA damage-induced phosphorylation of p53 alleviates inhibition by MDM2[J]. *Cell*, 1997, 91: 325 - 334.
- [14] BODE A M, DONG Z. Post-translational modification of p53 in tumorigenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(10): 793 - 805.
- [15] IGATA M, MOTOSHIMA H, TSURUZOE K, et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase suppresses vascular smooth muscle cell proliferation through the inhibition of cell cycle progression[J]. *Circ Res*, 2005, 97: 837 - 844.
- [16] RATTAN R, GRI S, SINGH A K. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside inhibits cancer cell proliferation in vitro and in vivo via AMP-activated protein kinase[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 39582 - 39593.
- [17] ZHUANG Y X, MSKINNS W K. Metformin inhibits breast cancer cell proliferation by downregulating cyclin D1[J]. *Proc Amer Assoc Cancer Res*, 2006, 47: 756.
- [18] GIARDIELLO F M, BRENSINGER J D, TERSMETTE A C, et al. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2000, 119: 1447 - 1453.
- [19] TIANEN M, VAAHTOMERI K, YLIKORKALA A. Growth arrest by the LKB1 tumor suppressor: Induction of p21 (WAF1/CIP1)[J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11: 1497 - 1504.
- [20] SHAW R J, LAMA K A, VASQUEZ D, et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin[J]. *Science*, 2005, 310: 1642 - 1646.
- [21] OUCHI N, KOBAYASHI H, KIHARA S, et al. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 1304 - 1309.
- [22] HNGAR D C, SALAMA S, TSOUC C, et al. Mammalian cell size is controlled by mTOR and its downstream targets S6K1 and 4EBP1/eIF4E[J]. *Genes Dev*, 2002, 16: 1472 - 1487.
- [23] CARRERA A C. TOR signaling in mammals[J]. *J Cell Sci*, 2004, 117: 4615 - 4616.
- [24] HORMANS, 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: 1419 - 1423.
- [25] KIMURA N, TOKUNAGA C, DALAL S, et al. A possible linkage between AMP-activated protein kinase (AMPK) and mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway[J]. *Genes Cells*, 2003, 8: 65 - 79.
- [26] SWINNEN J V, HEEMERS H, VAN DE SANDE T, et al. Androgens, lipogenesis and prostate cancer[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2004, 92: 273 - 279.
- [27] XIANG X, SAHA A K, WEN R, et al. AMP-activated protein kinase activators can inhibit the growth of prostate cancer cells by multiple mechanisms[J]. *Bochem Biophys Res Commun*, 2004, 321: 161 - 167.

(上接第13122页)

2.3.2 充分利用已有建筑资源打造建筑文化特色。丽水1400多年历史中留下了许多建筑遗址和古建筑,构成了丽水建筑环境深厚的文化背景,形成了独特的人文景观和独特的场所精神,应充分利用这些建筑资源打造丽水市独特的建筑文化特色。

2.3.3 充分挖掘、修复、重塑历史建筑。在打造城区景观建筑形象文化个性特色的同时,也要重视当代景观建筑文化识别系统的构筑。重现历代遗址建筑。如现存的大水门和丽阳门城墙等遗址建筑能展示丽水古城的历史文化内涵,传承丽水建筑的历史文脉,丰富城区的建筑文化。扩充革命文化建筑。革命文物是革命先烈遗留的珍贵的精神财富,不但应维修好保护好,更要利用好,应在现有资源的基础上扩充建筑外延,增设有关内容的档案馆与博物馆,以充分发挥革命文化建筑的教育功能。修复市井文化建筑。修复古街区、古民居、古寺观必将极大地推进城区旅游观光业的发展,市井文化建筑也是丽水城区建筑“个性”的体现。

2.4 采用乡土树种,加强街道景观整治工作。街道空间形态,包括所有建筑、建筑小品、树木等构成城市街道景观要素在内的物质实体以及它们相互组合的空间形式。对重点道路应配套建设城市雕塑、城市绿岛与城市小游园,并精心绿化。在形成优势树种的同时可考虑选取部分乡土树种作为街道树,以改变城市景观特色,如深山含笑、乐东拟单性木兰、柏木、杜英、蕤瓣杜英、薯豆、南岭黄檀、银杏、浙江樟、华东楠、刨花楠、桂花、福建柏、柳杉、黄山木兰、木荷、南方红豆杉、无患子、糙叶树、猴欢喜、香果树、竹柏、棕榈等。

2.5 加强宣传,号召市民共同参与。景观建筑是市民的建筑,城市是市民的城市,城市的建筑文化要靠市民来共同打造,要通过媒体宣传、征询公众意见、举行听证会等途径广泛发动群众参与城市建筑规划制定。

参考文献

- [1] 张继刚. 二十一世纪中国城市风貌探[J]. *华中建筑*, 2000, 18(2): 31 - 35.
- [2] 赵士修. 城市特色与城市设计[J]. *城市规划*, 1998, 22(4): 55 - 56.
- [3] 魏挹澧. 关于城市风貌规划的思考[J]. *小城镇建设*, 2000(10): 28 - 30.