

“2017年度中国科学十大进展”30项候选成果论文选登

葡萄糖感应器及其AMPK活性和细胞代谢状态的调控机理

◆林圣彩 张宸崧 林志忠

(厦门大学生命科学院, 厦门 361102)

摘要:葡萄糖是细胞的主要能量来源,它通过糖酵解和/或氧化代谢产生ATP。葡萄糖水平下降将激活AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase - AMPK),数十年来,人们一直认为这是由于AMP或ADP的上升,或者说能量水平的下降引起的。厦门大学生命科学院林圣彩研究团队与英国Dundee大学D. Grahame Hardie团队合作报道了一种通过感知胞内葡萄糖代谢中间物果糖-1,6-二磷酸(FBP)的下降来触发AMPK活化的机制:FBP水平下降,便不再占据其催化酶——醛缩酶(aldehyde dehydrogenase)上的催化位点,后者直接改变了溶酶体膜上的质子泵v-ATPase和与其相结合的“Ragulator”的构象,进而让携带有能磷酸化并激活AMPK的上游激酶LKB1的AXIN蛋白质转移到溶酶体膜表面,在此形成了能激活AMPK的复合体(该复合体也是由林圣彩实验室发现并鉴定 - Cell Metabolism, 2013, 2014),从而激活AMPK,同时抑制了促进细胞进行生物合成和生长的激酶 - mTORC1。重要的是,他们从中也颠覆性地发现细胞能量水平在葡萄糖水平急速下降期间仍保持不变,且AMPK上的AMP结合位点对于此时AMPK的活化不是必需的。该研究不仅发现了醛缩酶这一糖酵解酶的新功能:调控AMPK的葡萄糖感受器,还深刻地揭示了葡萄糖的本质:既是能量和物质来源,也是直接调控细胞生物合成和生长状态的信号,对多种代谢型疾病的发生、癌症与代谢关系的认知与治疗、卡路里限制与健康长寿等的认知具有重大意义。相关研究论文在2017年8月3日发表于《自然》[NATURE, 548(7665):112-116, August 2017]。

关键词:葡萄糖感应器,AMPK,醛缩酶,代谢稳态

中图分类号:Q251 文献标识码:A

收稿日期:2018-03-09 修订日期:2018-03-12

作者简介:林圣彩,厦门大学生命科学院教授。曾获得国家杰出青年基金、国家重大研究计划(首席科学家)、国家自然科学基金委重点项目等资助,有关细胞生长因子匮乏引发自噬的机制研究获2012年度中国十大科学进展。在Nature、Science、Cell等国际重要刊物发表论文90余篇,被他人引用近9000次。近年来,在AMPK以及mTORC1调控机制方面的研究做出了一系列突破性的发现。

葡萄糖是生物中最基本、最主要的营养物质和能量来源。它的代谢产物又是几乎所有合成途径中最重要的原材料。因此,感受其水平的变化并随时作出反应构成了生物体维持代谢平衡的基本过程,其调控机制也一直是代谢领域的研究热点。

人们已经发现,当葡萄糖水平升高时,

机体能通过一系列感受器感受这一变化并引发多层次的反应来同化葡萄糖,启动合成代谢。如肝脏中的核受体LXR能够直接结合葡萄糖,入核促进转录因子ChREBP对多个脂合成酶的转录从而促进脂质合成^[1]。近年来还发现小肠L细胞上的受体SGLT能够结合葡萄糖并引发胰高糖素样肽-1(GLP-1)的分泌从

而改善葡萄糖刺激的胰岛素分泌,并维持全身糖脂代谢稳态^[2]。目前,人们已开发出GLP-1的类似物,并成为糖尿病治疗过程的重要手段。

而相比之下,机体感应葡萄糖水平降低的机制研究还处于初步阶段。早前人们发现,AMPK (AMP-activated protein kinase, AMP激活的蛋白质激酶)能够响应机体葡萄糖水平的变化,并在其水平下降的时候被激活,该机制在真核生物中高度保守,从酵母到哺乳动物都已被发现^[3]。当葡萄糖水平降低时,激活的AMPK能够通过一系列方式维持代谢平衡和机体的正常生理功能。例如,饥饿能够引起血液和组织液中的葡萄糖水平的下降,AMPK在这时被激活,进而促进如肝脏等组织中脂肪酸的 β -氧化,使之转换为利用脂肪酸以代替葡萄糖^[4];与此同时,AMPK还能促进肝脏生成酮体,后者通过血液供给脑部等不能利用脂肪酸的器官,以满足这些组织的能量需求。许多生物的生命活动有昼夜节律(circadian rhythms),这种周期性也引起了机体内葡萄糖水平的周期性变化^[5]。AMPK能够响应这种变化并维持机体能量稳态^[6]。近年来,人们利用AMPK和葡萄糖之间的密切联系,开发了许多药物来模拟葡萄糖缺失的情况以激活AMPK,如无法被代谢的葡萄糖类似物2-DG,5-TG等^[7,8],这些药物能够通过阻断葡萄糖代谢来达到激活AMPK的目的,并已应用某些肿瘤的前期实验中^[9]。

然而,AMPK如何感应机体葡萄糖水平并被激活的机制长期以来并不清楚,甚至存在重大的误区。由于AMP在AMPK激活过程中的重要而经典的地位,它一直以来被人们认为是AMPK唯一的激活信号,同时人们的普遍认识是把葡萄糖的水平看作一种单纯的“能量信号”:葡萄糖水

平降低就表示“能量缺失”,引起ATP合成的减少和ADP水平的升高。而当机体内的ADP发生积累时,将促使体内的腺苷酸激酶(adenylate kinase)催化ADP生成ATP和AMP。ATP可用于供能并被进一步消耗成ADP而被转化,而AMP则进一步积累,引起AMPK的激活。但是,上述AMP激活AMPK的结论源于体外实验,细胞究竟如何应对葡萄糖水平下降以及触发生理状态改变尚不清楚。

自2013年以来,厦门大学林圣彩教授课题组发现了一系列有关细胞如何感知低葡萄糖水平并激活AMPK的机制。他们首先发现了LKB1需要一个名为AXIN(axis inhibitor)的蛋白质作为构架才能连接到AMPK上^[10]。AXIN是一个多功能的构架蛋白,参与调节许多信号通路,如Wnt、JNK和p53等,对细胞生长起重要的调控作用。之后又发现了在葡萄糖饥饿时,AMPK的激活是在溶酶体膜表面进行的,称之为“溶酶体途径”,该途径还同时抑制了促合成代谢的mTORC1的活性^[11]。

新近发现更是否定了此时葡萄糖作为一种单纯的“能量信号”的结论:无论在不含葡萄糖的细胞培养条件下,还是在饥饿的低血糖的动物体内,都不能检测到AMP水平的上升,充分说明了机体有一套尚不为人知的、独立于AMP的感应低葡萄糖水平的机制。他们进一步揭示了这一完整过程:葡萄糖水平下降将引起的葡萄糖代谢中间物果糖1,6-二磷酸(FBP)水平的下降,该过程进一步地被糖酵解通路上的催化FBP水解成三碳糖的醛缩酶Aldolase感应;当Aldolase不能结合FBP时,便发生变构,传递给溶酶体途径而激活AMPK。该过程完全不涉及AMP水平的变化,是一条全新的、建立在实际的生理情况上的通路^[12](图1)。

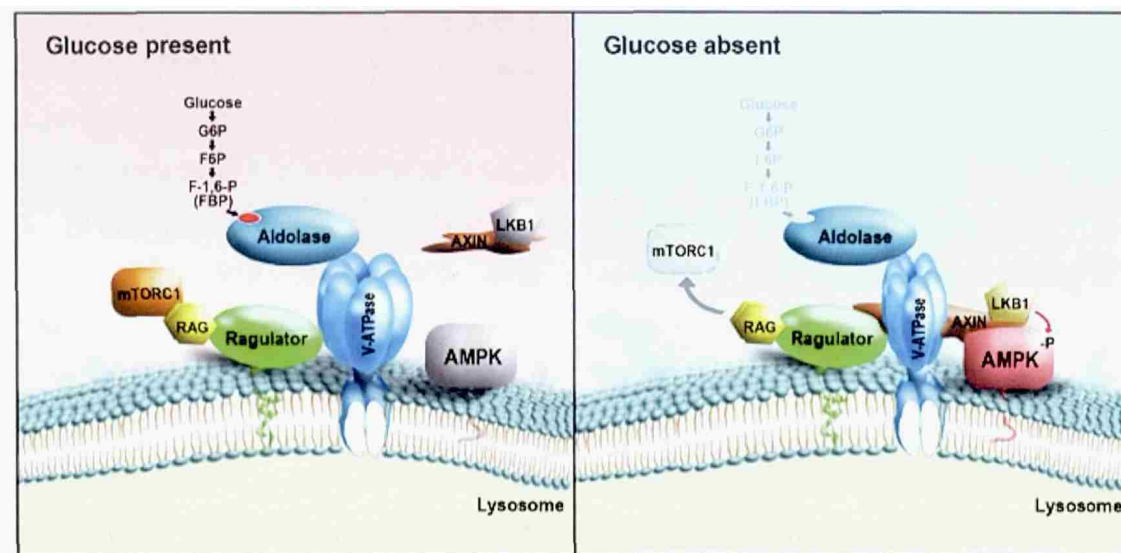


图1 葡萄糖的水平决定细胞代谢状态的机理^[12]

左图：当细胞处于葡萄糖富足的状态下，其代谢中间物果糖 1,6-二磷酸（FBP）结合到催化 FBP 水解成三碳糖的醛缩酶（aldolase），溶酶体膜上的 v-ATPase-Ragulator-Rag 复合体让促合成代谢的 mTORC1 保持激活状态。右图：葡萄糖水平下降将引起 FBP 水平的下降，醛缩酶不能结合到 FBP，此时 v-ATPase-Ragulator-Rag 复合体发生变构，与携带上游激酶 LKB1 的 AXIN 相结合，从而激活 AMPK，并使 mTORC1 脱离溶酶体表面而失活。

该研究把葡萄糖水平从单一的“能量信号”升华成一种代谢“状态信号”，即葡萄糖的匮乏本身就是一种“状态”，可以直接被机体感受并引起一系列生理生化反应。这种反应机制和机体感受高葡萄糖水平形成了完美的对应，从此我们知道，在葡萄糖水平下降时，机体代谢的调控不需要“绕道”能量水平，而是可以直接地被它的感受器感知从而关闭合成代谢，启动分解代谢。这一机制的好处也是显而易见的，在能量水平下降之前便作出应激反应，确保胞内的 ATP 水平保持恒定。“状态信号”的存在使得机体能够“前瞻性”地应对复杂的外界条件和各种应激压力，保证生命活动的有序进行。

这一重要发现不仅解决了葡萄糖水平调控代谢状态这一基本问题，也打破了传统的“AMPK 的激活依赖于 AMP 浓度的变化”的认知。同时，也深化了我们对于许多低葡萄糖水平下启动的、不依赖于 AMPK 的应激反应（如自噬作用）

机制的理解，为未来的研究提供了新思路。该研究的深远意义还在于提供了一个全新的靶点和通路，对开发用于治疗肥胖症，乃至延长寿命的药物具有重要的价值。■

● 参考文献

- [1] Mitro N, Mak PA, Vargas L, et al. The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature*. 2007 Jan 11;445(7124):219-23..
- [2] Pia V Roder, Kerstin E Geillinger, Tamara Zietek, et al. The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing. *PLoS ONE* 9, e89977 (2014).
- [3] HARDIE D G, CARLING D. The AMP-activated protein kinase: fuel gauge of the mammalian cell?. *Eur J Biochem*, 1997, 246(2):259-273.
- [4] SAVAGE D B, CHOI C S, SAMUEL V T, et al. Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2. *J Clin Invest*, 2006, 116(3):817-824.
- [5] MARCHEVA B, RAMSEY K M, BUHW E D, et al. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes.

- Nature, 2010, 466(7306):627–631.
- [6] JORDAN S D, LAMIA K A. AMPK at the crossroads of circadian clocks and metabolism. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 366(2):163–169.
- [7] CRAMER F B, WOODWARD G E. 2-Deoxy-D-glucose as an antagonist of glucose in yeast fermentation. *Journal of the Franklin Institute*, 1952, 253(4):354–360.
- [8] ZHANG D, LI J, WANG F, et al. 2-Deoxy-D-glucose targeting of glucose metabolism in cancer cells as a potential therapy. *Cancer Lett*, 2014, 355(2):176–183.
- [9] ROWE I, CHIARAVALLI M, MANNELLA V, et al. Defective glucose metabolism in polycystic kidney disease identifies a new therapeutic strategy. *Nat Med*, 2013, 19(4):488–493.
- [10] ZHANG Y L, GUO H, ZHANG C S, et al. AMP as a low-energy charge signal autonomously initiates assembly of AXIN-AMPK-LKB1 complex for AMPK activation. *Cell Metab*, 2013, 18(4):546–555.
- [11] ZHANG C S, JIANG B, Li M, et al. The lysosomal v-ATPase-Ragulator complex is a common activator for AMPK and mTORC1, acting as a switch between catabolism and anabolism. *Cell Metab*, 2014, 20(3):526–540.
- [12] ZHANG C S, HAWLEY S A, ZONG Y, et al. Fructose-1,6-bisphosphate and aldolase mediate glucose sensing by AMPK. *Nature*, 2017, 548(7665):112–116.

Glucose Sensing and its Linkage to Regulation of AMPK as well as Cellular Metabolic Status

Lin Shengcai Zhang Chensong Lin Zhizhong

(School of Life Sciences, Xiang'an Campus, Xiamen University, Xiang'an District, Xiamen, Fujian Province, China 361102)

Abstract: The major energy source for most cells is glucose, from which ATP is generated via glycolysis and/or oxidative metabolism. Glucose deprivation activates AMP-activated protein kinase (AMPK), but it is unclear whether this activation occurs solely via changes in AMP or ADP, the classical activators of AMPK. Here, Shengcai Lin group from Xiamen University and D. Grahame Hardie group from Dundee University describe an AMP/ADP-independent mechanism that triggers AMPK activation by sensing the absence of fructose-1,6-bisphosphate (FBP), with AMPK being progressively activated as extracellular glucose and intracellular FBP decrease. When unoccupied by FBP, aldolases promote the formation of a lysosomal complex containing at least v-ATPase, Ragulator, Axin, liver kinase B1 (LKB1) and AMPK, which has previously been shown to be required for AMPK activation. Knockdown of aldolases activates AMPK even in cells with abundant glucose, whereas the catalysis-defective D34S aldolase mutant, which still binds FBP, blocks AMPK activation. Cell-free reconstitution assays show that addition of FBP disrupts the association of axin and LKB1 with v-ATPase and ragulator. Importantly, in some cell types, AMP/ATP and ADP/ATP ratios remain unchanged during acute glucose starvation, and intact AMP-binding sites on AMPK are not required for AMPK activation. These results establish that aldolase, as well as being a glycolytic enzyme, is a sensor of glucose availability that regulates AMPK. The research paper was published on August 3, 2017 in *Nature* [*NATURE*, 548(7665):112–116, August 2017].

Key words: Glucose sensor; Metabolic homeostasis; AMPK; Aldolase