

Compound C 抑制腺苷酸活化蛋白激酶的磷酸化后对缺氧预处理的影响及其机制

李娜¹, 贺涓涓¹, 汪倩², 周敏³, 李超英⁴, 李玲³

(1.中山大学附属第三医院康复医学科,广东广州 510630;2.中山大学附属第一医院特诊内科,广东广州 510080;
3.中山大学附属第一医院神经内科,广东广州 510080;4.江门市中心医院,广东江门 529030)

摘要:【目的】探讨 Compound C 抑制腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)的磷酸化后对缺氧预处理的影响。【方法】筛选合适的 Compound C 浓度。将细胞分为 Compound C 组和 non-Compound C 组,以上两组再各自分为 3 个亚组:对照组(control);缺氧预处理+缺氧组(Hyp+OGD);单纯缺氧组(OGD);噻唑蓝(MTT)比色法测定细胞活性。ATP 荧光检测试剂盒测定胞内的 ATP 水平。Western Blot 法测定各组细胞内 AMPK α ,磷酸化的 AMPK α (P-AMPK α),过氧化物酶体增生激活受体- γ 共刺激因子-1 α (PGC-1 α)的蛋白表达水平。【结果】OGD 后 Compound C 组(0.418 \pm 0.021)和 non-Compound C 组(0.640 \pm 0.028)相比,细胞活性下降更明显($P < 0.01$),经预处理后细胞活性均增加(P 均 < 0.05),加入 Compound C 后,control 组细胞活性下降 3.5%($P = 0.473$),OGD 组细胞活性下降 34.6%($P < 0.01$),而缺氧预处理后细胞活性下降 21.1%($P < 0.05$)。OGD 后 Compound C 组(0.042 \pm 0.001)和 non-Compound C 组(0.051 \pm 0.001)相比,ATP 下降更明显($P < 0.05$),经预处理后 ATP 水平分别增加了 21.5%及 28.0% (P 均 < 0.05)。Compound C 3 组 AMPK α 蛋白的表达与 non-Compound C 对应的 3 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。OGD 后,Compound C 组与 non-Compound C 组细胞 P-AMPK α 蛋白的表达均明显增加(与各自的对照组比较, P 均 < 0.05)。经预处理后,non-Compound C 组 P-AMPK α 蛋白的表达较单纯 OGD 组增加 ($P < 0.05$),但 Compound C 组 P-AMPK α 蛋白的表达与单纯 OGD 组间的差异无统计学意义($P = 0.935$)。Compound C 组细胞 PGC-1 α 蛋白的表达与 non-Compound C 组对应的 3 组比较明显下降 (P 均 < 0.05),其中 control 组下降了 68.1%,Hyp+OGD 组下降了 24.7%,OGD 组下降了 39.6%,Hyp+OGD 及 OGD 相对于各自 control 组均上调其表达(P 均 < 0.05),且预处理组的上调更明显(与 OGD 组比较, P 均 < 0.05)。【结论】Compound C 抑制 AMPK 的激活后,PGC-1 α 的表达下调,AMPK 为缺氧预处理或缺氧处理上调 PGC-1 α 的其中一条途径,抑制其活体 P-AMPK α 后其他的途径仍然在缺氧预处理中发挥重要的细胞保护作用。

关键词:腺苷酸活化蛋白激酶;过氧化物酶体增生激活受体- γ 共刺激因子-1 α ;缺氧预处理;Compound C

中图分类号:R363 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2016)02-0168-07

Effect and Mechanism of Phosphorylated AMPK on Hypoxia Preconditioning with Its Special Inhibitor-Compound C

LI Na¹, HE Juan-juan¹, WANG Qian², ZHOU Min³, LI Chao-ying⁴, LI Ling³

(1. Department of Rehabilitation, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 2. Special Clinic Medicine, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 4. Department of Neurology, The Central Hospital of Jiangmen, Jiangmen 529030, China)

Corresponding to: LI Ling, E-mail: 2591920958@qq.com

Abstract:【Objective】To investigate the effect of AMP-activated protein kinase (AMPK) on hypoxia preconditioning(Hyp) with its special inhibitor-Compound C. 【Methods】MTT assay an Western blot were used to select the suitable Compound C concentration. Cells with Compound C or without Compound C were divided into control, hypoxia preconditioning+Oxygen-glucose deprivation

收稿日期:2016-09-09

基金项目:国家自然科学基金(81071069);广东省科技计划项目(201013080701008)

作者简介:李娜,硕士研究生,住院医师,研究方向:脑血管病,E-mail:ln8639@163.com;李玲,通信作者:博士生导师,教授,E-mail:2591920958@qq.com

(Hyp+OGD) and OGD respectively. MTT assay was used to test the cell viability. The ATP level was evaluated using ATP Fluorometric Assay Kit. The expression of AMPK, Peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α) and phosphorylated-AMPK (P-AMPK) were assessed at the protein level by Western blot. 【Results】 After OGD, the cell activity decreased more in Compound C compared with non-Compound C (0.418 ± 0.002 vs 0.640 ± 0.028 , $P < 0.01$), but were increased in Hyp+OGD respectively ($P < 0.05$). After adding Compound C, the cell activity decreased 3.5% in control ($P=0.473$), 34.6% in OGD ($P < 0.01$) and 21.1% in Hyp+OGD ($P < 0.05$). After OGD, the ATP levels decreased more in Compound C compared with non-Compound C (0.042 ± 0.001 vs 0.051 ± 0.001 , $P < 0.05$), but were increased 21.5% and 28.0% in Hyp+OGD respectively ($P < 0.05$). The expression of AMPK had no statistical difference in the three groups of Compound C compared with non-Compound C respectively ($P > 0.05$). After OGD, the expression of P-AMPK α were increased significantly in Compound C and non-Compound C compared with its control ($P < 0.05$). After preconditioning, the expression of P-AMPK α were increased in non-Compound C compared with OGD ($P < 0.05$), while had no statistical difference in Compound C compared with OGD ($P = 0.935 > 0.005$). The expression of PGC-1 α were declined significantly in the three groups of Compound C compared with non-Compound C respectively ($P < 0.01$), it decreased 68.1% in control, 24.7% in Hyp+OGD and 39.6% in OGD, but were both increased in Hyp+OGD and OGD compared with control ($P < 0.05$), and were increased more in Hyp+OGD compared with OGD ($P < 0.05$). 【Conclusion】 The expression of PGC-1 α were decreased with Compound C (a special inhibitor of AMPK) and AMPK was one of the ways that hypoxia preconditioning or hypoxia up regulated the expression of PGC-1 α .

Key words: AMP-activated protein kinase; peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator-1 α ; hypoxic preconditioning; compound C

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2016, 37(2):168-174]

缺氧预处理 (hypoxic preconditioning, Hyp) 是指预先反复短暂缺氧, 可使组织或细胞对后续严重的缺氧打击产生抵抗或耐受的一种生物学效应^[1]。但其保护具体机制尚不明确。腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 作为代谢燃油表, 在维持细胞内的能量平衡方面具有重要的作用。AMPK 是一个高度保守的 ATP 感受器, 包括一个催化亚基 α 和两个调节亚基 β 、 γ 。AMPK 作为代谢感受器, 在生长、分化和新陈代谢处于低能量状态时, 会发生适应性的改变。既往研究表明 AMPK 构成基础及能量需求改变时线粒体基因表达的调控因子, 如缺氧、缺血、氧化性应激和糖剥夺时引起细胞内 AMP/ATP 的比率的变化, 激活 AMPK, 抑制 ATP 的消耗, 促进 ATP 的生成^[2-3]。Brooke 等^[2]研究发现, 使用 AMPK 的激活子氨基咪唑甲酰胺核糖核苷酸 (aminoimidazole carboxamide ribonucleotide, AICAR) 处理后, 可通过磷酸化 AMPK 催化亚基 α 的苏氨酸 172 残基来激活 AMPK, 增加骨骼肌过氧化物酶体增生激活受体- γ 共刺激因子-1 α (Peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 蛋白表达, 增加线粒体酶的活性和细胞色素 C 的表达。而目前 AMPK 在缺氧预处理中的作用未见报道。本研究拟通过 Compound C 抑制 AMPK 的磷酸化,

探讨其对缺氧预处理保护作用的影响, 进而说明 AMPK 参与缺氧预处理的神经保护作用。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞 (rat pheochromocytoma, PC12) 细胞常规培养于含 RPMI 1640+体积分数 10% 的 HS (马血清)+体积分数 5% 的 FBS (胎牛血清) 的培养基中。用于实验的细胞代数为 5 到 15 代, 实验前将细胞种植于多聚赖氨酸包被的 96 孔板或其他不同直径的皿中。

1.2 筛选合适的 Compound C 的浓度

PC12 细胞接种于 96 孔板, Compound C 分为 0、10、100、500、1 000、2 000 nmol/L 6 个浓度梯度, 每组 6 复孔, 加药 72 h 后 MTT 测定细胞活性, 同时结合 WB 的结果确定最优的 Compound C 浓度。

1.3 细胞预处理实验模型和分组

将 PC12 细胞分为 Compound C 组和 non-Compound C 组, 各自又分为空白对照组 (control); 缺氧预处理+缺氧组 (Hyp+OGD) [(体积分数 95% N₂+5% CO₂) 混合气体通气 30 min, 然后在缺氧盒中封闭 30 min 后再放回 37 °C 5% CO₂ 的培养箱继续培养, 48 h 后换缺氧液, 再放入 N₂ 与 CO₂ 混合

气体通气 30 min,然后在缺氧盒中封闭缺氧 6 h];单纯缺氧组(OGD)(换缺氧液后在缺氧盒中封闭缺氧 6 h)。

1.4 细胞活性的检测

噻唑蓝 [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide, MTT (Sigma, USA)]比色法测定细胞活力。细胞接种于 96 孔培养板,每组 6 复孔。处理完后各组细胞吸走刺激液或培养基,每孔加 180 μL 1640+20 μL MTT(0.5 mg/mL)于 37 $^{\circ}\text{C}$ 体积分数 5% CO_2 的培养箱避光孵育 4 h,然后吸走刺激液加入二甲亚砜(Dimethyl Sulfoxide, DMSO)100 μL 溶解结晶,于荧光/化学发光分析仪以 490 nm 波长检测各组分光度,计算各组细胞的存活率。

1.5 荧光法测定细胞内 ATP 的水平

使用 ATP 荧光检测试剂盒(Biovision, USA)测定胞内 ATP 的水平。细胞接种于 60 mm 培养皿,缺氧后收集细胞,加入 100 μL 的 ATP 检测液,冰上孵育 20 min,15 000 r/min 离心 2 min,收集上清,加 50 μL 的样本到 96 孔,最后加入 50 μL 的反应液,常温下避光孵育 30 min,于 SpectraMax GEMINI EM 荧光检测仪(Molecular Devices, USA)定量读取,波长 535/587 nm。最后根据标准品测定标准曲线,计算出荧光定量相应的 ATP 摩尔数。

1.6 细胞蛋白含量检测

Western Blot 检测细胞内 AMPK α 、P-AMPK α 、PGC-1 α 的蛋白表达。 β -actin 为内参。细胞总蛋白提取后使用 BCA 蛋白检测试剂盒(Pierce, USA)测量蛋白浓度。在 8%的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶中加入蛋白,电泳分离蛋白后,电转法将目的蛋白条带从凝胶转移到 PVDF 膜上,脱脂奶粉封闭液中封闭 1 h,分别加一抗(1:1 000 AMPK α 抗体,Cell signaling technology, USA; 1:1 000 P-AMPK α 抗体, Cell signaling technology, USA; 1:2 000 PGC-1 α 抗体, Novus Biologicals, USA; β -actin 抗体, Sigma, USA)室温 1 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜, TBST 洗膜 3 次,加二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次后化学发光(Milipore, USA)显色,照相,采用 QuantlityOne 分析软件(Bio-Rad, USA)对目的蛋白条带的灰度值与 β -actin 灰度值的比值的进行统计分析。

1.7 统计学方法

统计学处理采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,实验数据均以均数 \pm 标准差表示。独立定量数据

组间比较如符合正态分布及方差齐性采用 t 检验或单因素方差分析(One way ANOVA),两两比较采用 LSD 法;如数据不符合正态分布或方差齐性的条件则采用秩和检验(Kruskal-Wallis test),两两比较采用两个独立样本的非参数检验(Mann-Whitney U test), $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。实验结果均经重复实验 3 次以上。

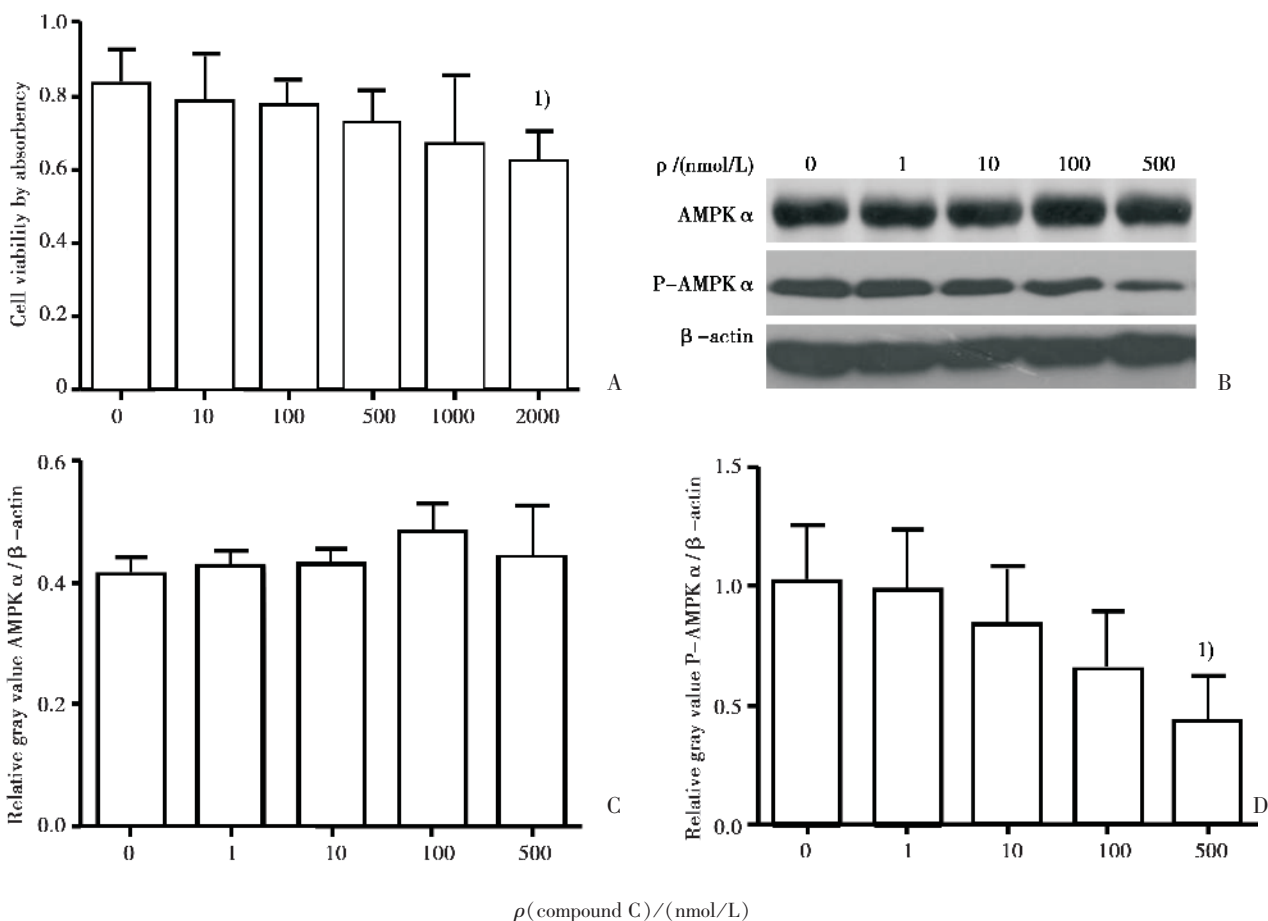
2 结 果

2.1 筛选合适的 Compound C 浓度

如图 1A 所示,6 组间细胞活性有统计学差异($H_c = 14.230, P = 0.015$)。与对照组相比,各加药组随着 Compound C 浓度的增加,细胞活性呈下降的趋势,其中 10、100、500、1 000 nmol/L 组细胞活性与对照组相比无统计学差异($P = 0.710, P = 0.318, P = 0.073, P = 0.097$),而 2 000 nmol/L 组细胞活性与对照组有统计学差异($P = 0.001$)。如图 1B、C、D 所示,5 组间 AMPK α 的表达无统计学差异($P = 1.244, P = 0.334$);5 组间 P-AMPK α 的表达有统计学差异($H_c = 11.2, P = 0.024$)。与对照组相比,各加药组随着 Compound C 浓度的增加, P-AMPK α 的表达呈下降趋势,其中 1、10、100 nmol/L 组 P-AMPK α 的表达与对照组无统计学差异($P = 0.343, P = 0.200, P = 0.200$),而 500 nmol/L 组 P-AMPK α 的表达与对照组有统计学差异($P = 0.029$),因此选用 500 nmol/L 作为终浓度进行后续实验。

2.2 缺氧预处理模型中加入 Compound C 后对细胞活性的影响

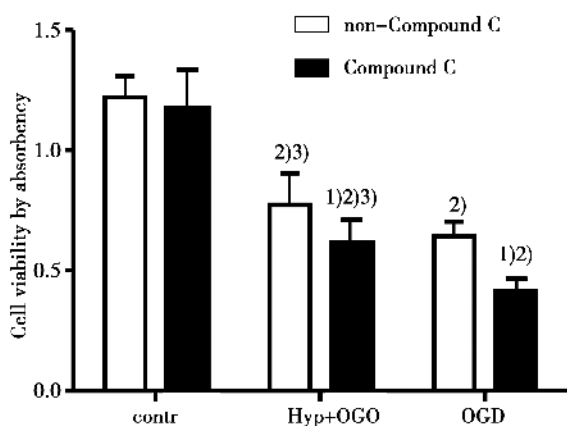
如图 2 所示,6 组细胞间的活性有统计学差异($F = 59.387, P = 0.000$)。正常情况下 Compound C 组(1.181 ± 0.063)与 non-Compound C 组(1.225 ± 0.034)比较,细胞活性下降了 3.5%,差异无统计学意义($P = 0.473$)。OGD 后 Compound C 组和 non-Compound C 组细胞活性均明显下降,分别为各自对照组的 35.4% 和 52.4% (P 均 = 0.000), Compound C 组(0.418 ± 0.021)和 non-Compound C 组(0.640 ± 0.028)相比,细胞活性下降了 34.6% ($P = 0.001$)。经预处理后 Compound C 组(0.614 ± 0.042)和 non-Compound C 组(0.778 ± 0.051)的细胞活性均较单纯缺氧组增加(与 OGD 相比, $P = 0.003, P = 0.028$), Compound C 组和 non-Compound C 组相



A: Cell activity determined with MTT assays, $n = 7$, mean \pm SD; B: Western blot analyses of AMPK α and P-AMPK α protein expressions in PC12 cells. C, D: Densitometric quantification of (B), $n = 4$, mean \pm SD. 1) $P < 0.05$ vs control.

图 1 MTT 及 Western blot 筛选合适的 Compound C 的浓度

Fig.1 Screening for a suitable concentration of compound C with MTT assays and Western blots



non-Compound C = without Compound C. Compound C = with Compound C. Hyp + OGD = hypoxia preconditioning + oxgen-glucose deprivation. OGD = oxgen-glucose deprivation. $n = 3$, mean \pm SD. 1) $P < 0.05$ vs. non-Compound C of the same group; 2) $P < 0.01$ vs control of the same group; 3) $P < 0.05$ vs OGD of the same group

图 2 Compound C 对细胞活性的影响

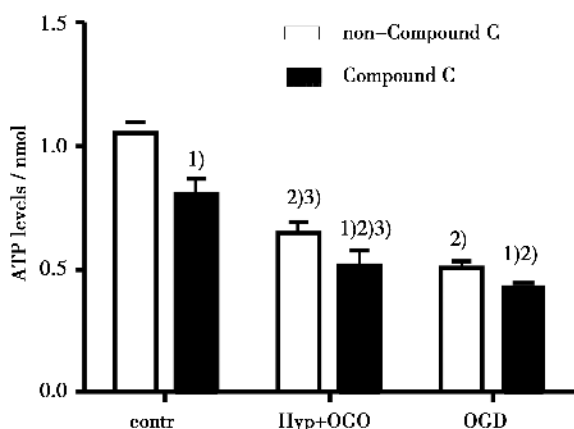
Fig.2 The effects of compound C on cell viability

比,细胞活性下降了 21.1% ($P = 0.01$)。

2.3 加入 Compound C 后对细胞 ATP 水平的影响

如图 3 所示,6 组细胞间的 ATP 水平差异有统计学意义 ($F = 74.392, P = 0.000$)。Compound C 组细胞 ATP 的水平与 non-Compound C 组相应的 3 组比较明显下降 ($P = 0.000, P = 0.004, P = 0.046$)。OGD 后 Compound C 组和 non-Compound C 组的 ATP 水平均明显下降 (P 均 = 0.000),分别为各自对照组的 52.3% 及 58.4%, Compound C 组 (0.042 ± 0.001) 与 non-Compound C (0.051 ± 0.001) 组相比,ATP 下降更明显 ($P = 0.046$)。经预处理后 Compound C 组 (0.051 ± 0.001) 和 non-Compound C 组 (0.075 ± 0.002) 的 ATP 水平均较单纯 OGD 组增加 ($P = 0.035, P = 0.003$),分别增加了 21.5% 及 28.0%。

2.4 在缺氧预处理模型中加入 Compound C 后



non-Compound C = without Compound C. Compound C = with Compound C. Hyp + OGD = hypoxia preconditioning+oxgen-glucose deprivation. OGD = oxgen-glucose deprivation. $n = 3$, mean \pm SD. 1) $P < 0.05$ vs non-Compound C of the same group; 2) $P < 0.01$ vs control of the same group; 3) $P < 0.05$ vs OGD of the same group.

图3 Compound C 后对 PC12 细胞内 ATP 水平的影响
Fig.3 The effects of Compound C on intracellular ATP levels in PC12 cells

对 AMPK α 、P-AMPK α 及 PGC-1 α 蛋白表达的影响

如图 4B 所示,6 组间 AMPK α 蛋白的表达有统计学差异 ($F = 10.674, P = 0.000$)。Compound C 组与 non-Compound C 组相比,AMPK α 蛋白的表达无显著性差异 ($P = 0.281, P = 0.369, P = 0.825$)。OGD 后以上两组细胞的 AMPK α 蛋白的表达均明显增加 (P 均 = 0.000, 与各自的对照组相比)。经预处理后,以上两组细胞的 AMPK α 蛋白的表达较各单纯 OGD 组减少,但差异无统计学意义 ($P = 0.165, P = 0.463$)。图 4C 显示 6 组间 P-AMPK α 蛋白的表达有统计学差异 ($F = 18.588, P = 0.000$)。Compound C 组细胞 P-AMPK α 蛋白的表达与 non-Compound C 比较明显下降 ($P = 0.010, P = 0.000, P = 0.009$)。OGD 后,Compound C 组与 non-Compound C 组细胞 P-AMPK α 蛋白的表达均明显增加 (与各自的对照组比较, $P = 0.015, P = 0.013$)。经预处理后,non-Compound C 组 P-AMPK α 蛋白的表达较单纯 OGD 组增加 ($P = 0.014$),但 Compound C 组 P-AMPK α 蛋白的表达与单纯 OGD 组间的差异无统计学意义 ($P = 0.935$)。图 4D 显示 6 组细胞间 PGC-1 α 蛋白的表达有显著性差异 ($F = 19.764, P = 0.000$)。Compound C 组细胞 PGC-1 α 蛋白的表达与 non-

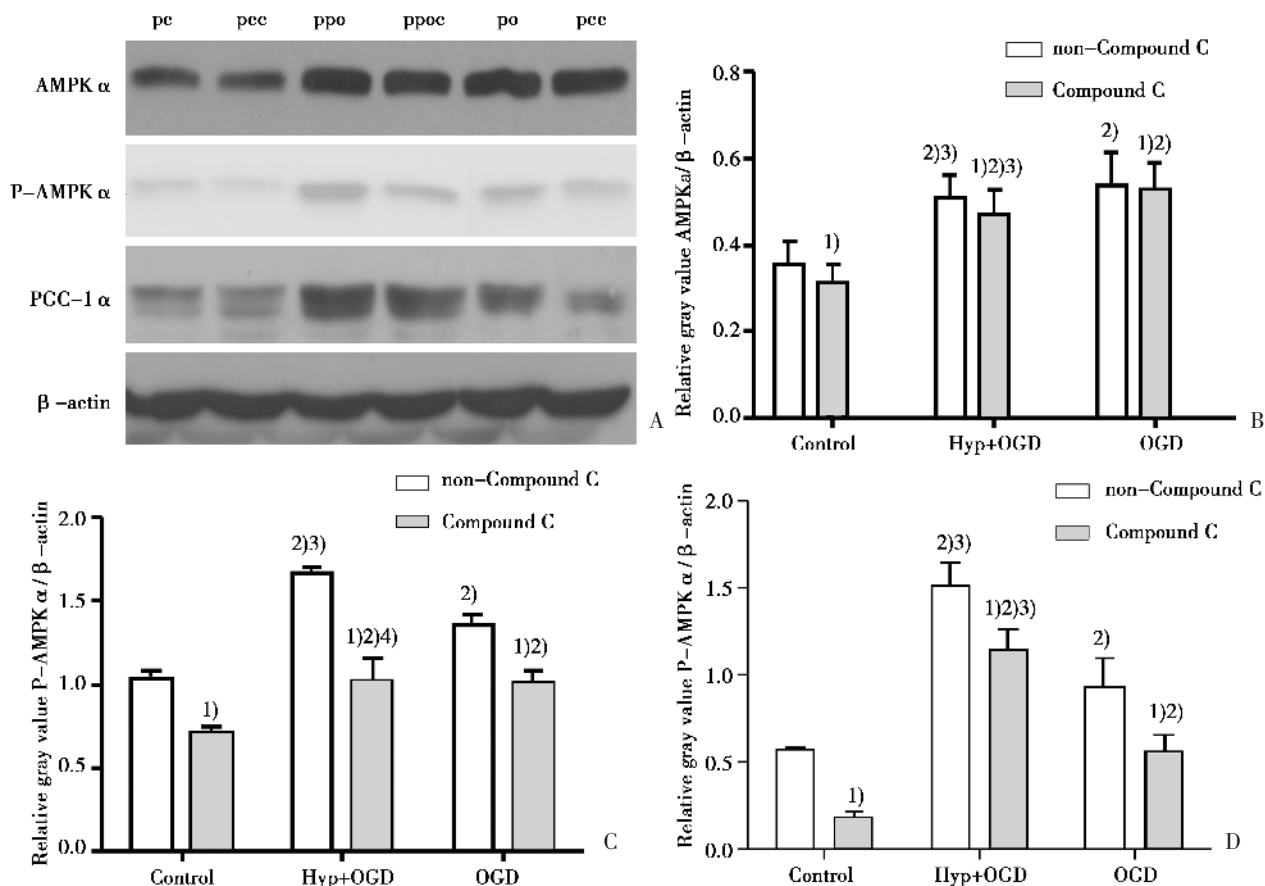
Compound C 组对应的 3 组比较明显下降 ($P = 0.018, P = 0.024, P = 0.026$),其中 control 组下降了 68.1%,Hyp+OGD 组下降了 24.7%,OGD 组下降了 39.6%,Hyp+OGD 及 OGD 相对于各自 control 组均上调其表达 ($P = 0.000, P = 0.023, P = 0.000, P = 0.032$),且预处理组的上调更明显(与 OGD 组比较, P 均 = 0.001)。

3 讨论

缺氧可影响细胞线粒体的氧化磷酸化,从而使 ATP 的生成减少,以至细胞供能不足,最终导致细胞的死亡^[4]。既往研究报道 PGC-1 α 通过参与线粒体的生物合成及呼吸,促进 ATP 的生成发挥细胞保护作用^[5-6]。我们前期研究发现缺氧预处理可上调 PGC-1 α 的表达,增加 ATP 的生成^[7]。

研究报道 AMPK 上调心肌细胞中 PGC-1 α 的表达^[8]。AMPK 是一个高度保守的 ATP 感受器和代谢燃油表,包括一个催化亚基 α 和两个调节亚基 β, γ , 在维持细胞内的能量平衡方面具有重要的作用。AMPK 作为代谢感受器,在生长、分化和新陈代谢处于低能量状态时,会发生适应性的改变。缺氧、缺血、氧化性应激和糖剥夺时引起细胞内 AMP 增多,AMP 结合到 AMPK 的 γ 亚基上,通过变构效应使 AMPK 的 α 亚基容易被上游激酶激活,AMPK 被激活后,抑制 ATP 的消耗,促进 ATP 的生成^[9-10]。磷酸化 AMPK 催化亚基 α 的 Thr172 位点对于 AMPK 的激活是必须的。激活的 AMPK 通过依赖 PGC-1 α 的转录途径促进线粒体的生物合成发挥细胞保护作用^[11-12]。由此可见 AMPK 与 PGC-1 α 及 ATP 的生成存在着一定的相关关系。我们推测 AMPK 作为能量感受器在缺氧预处理中可能发挥着重要的细胞保护作用。因此本实验通过添加 AMPK 的特异性抑制剂 Compound C 进一步逆向探讨 AMPK 在缺氧预处理中的重要作用。

结果显示,加入 Compound C 后在正常情况下对细胞活性影响不大,但明显降低细胞对于缺氧引起损伤的耐受力,而缺氧预处理可通过其他的途径部分代偿,减少细胞的损伤。加入 Compound C 后可减少正常情况下 ATP 的生成,同时明显降低细胞在缺氧状态下 ATP 的生成,而缺氧预处理可通过其他的途径部分代偿。Compound C 抑制 AMPK 的激活,即抑制 AMPK 的磷酸化后,在正



non-Compound C = without Compound C. Compound C = with Compound C. Hyp + OGD = hypoxia preconditioning+oxygen-glucose deprivation. OGD = oxygen-glucose deprivation. pc = control of non-Compound C; pec = control of Compound C; ppo = Hyp+OGD of non-Compound C; ppoc = Hyp+OGD of Compound C; po = OGD of non-Compound C; poc = OGD of Compound C. A: Western blot analyses of the protein expressions of AMPK α , P-AMPK α and PGC-1 α in the PC12 cells. B-D: Densitometric quantification of A. $n = 4$, mean \pm SD. 1) $P < 0.05$ vs c non-Compound C of the same group; 2) $P < 0.05$ vs control of the same group; 3) $P < 0.05$ vs OGD of the same group; 4) $P < 0.05$ vs OGD of Compound C.

图 4 加入 Compound C 后 AMPK α 、P-AMPK α 及 PGC-1 α 蛋白的表达情况

Fig. 4 The expression of AMPK α , P-AMPK α and PGC-1 α on protein level in cell with Compound C

常、预处理及缺氧状态下 PGC-1 α 的表达均较 non-Compound C 组下降,且缺氧预处理组下降最少, Hyp+OGD 及 OGD 相对于对照组均上调,且 Hyp+OGD 上调更明显。说明 Compound C 抑制 AMPK 的磷酸化后 PGC-1 α 的表达下降,但缺氧预处理及缺氧均能通过其他的途径上调 PGC-1 α 的表达,其中预处理的代偿作用更强, AMPK 为预处理及缺氧处理上调 PGC-1 α 的其中一条途径。

我们同时发现, PC12 细胞在正常状态下均有少量的 AMPK α 及 P-AMPK α 的表达,说明他们对细胞正常存活和功能运行具有不可替代的功能。既往文献报道 AMPK 参与众多生理代谢,如蛋白质代谢、糖代谢、脂代谢及线粒体的合成和自噬^[13-14],同时新近文献报道 AMPK 参与控制细胞生长、极

性、移行及细胞膜的流动性等诸多环节^[11]。

综上所述,我们发现在缺氧预处理中 AMPK 通过上调 PGC-1 α 的表达,促进 ATP 的生成,维持细胞的能量代谢、发挥细胞保护作用。AMPK 通过 PGC-1 α 促进 ATP 的生成只是缺氧预处理其中的一条途径,缺氧预处理可以通过其他途径发挥代偿作用。缺氧预处理的机制错综复杂,希望我们关于 AMPK 在缺氧预处理机制中的探讨为脑卒中的治疗提供新的方向。

参考文献

[1] ECHEVERRY R, WU F, HAILE WB, et al. The cytokine tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and its receptor fibroblast growth factor -

- inducible 14 have a neuroprotective effect in the central nervous system[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 45.
- [2] EMERLING BM, WEINBERG F, SNYDER C, et al. Hypoxic activation of AMPK is dependent on mitochondrial ROS but independent of an increase in AMP/ATP ratio[J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46(10): 1386–1391.
- [3] FULCO M, SARTORELLI V. Comparing and contrasting the roles of AMPK and SIRT1 in metabolic tissues [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(23): 3669–3679.
- [4] FERMOR B, GURUMURTHY A, DIEKMAN BO. Hypoxia, RONS and energy metabolism in articular cartilage [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(9): 1167–1173.
- [5] SCARPULLA RC. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(7): 1269–1278.
- [6] ST-PIERRE J, LIN J, KRAUSS S, et al. Bioenergetic analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1alpha and 1beta (PGC-1alpha and PGC-1beta) in muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(29): 26597–26603.
- [7] 李超英, 李玲, 赵嘉, 等. 沉默信息调节因子 3 参与缺氧预处理对神经元的保护作用[J]. *中华神经科杂志*, 2011, 44(7): 482–486.
- LI CY, LI L, ZHAO JIA, et al. Mechanisms of neuroprotection of silent information regulation 2 homolog 3 against hypoxic injury in hypoxic preconditioning[J]. *Chin J Neurol*, 2011, 44(7): 482–486.
- [8] ZHU L, WANG Q, ZHANG L, et al. Hypoxia induces PGC-1alpha expression and mitochondrial biogenesis in THE myocardium of TOF patients[J]. *Cell Res*, 2010, 20(6): 676–687.
- [9] FREDERICH M, ZHANG L, BALSCHI JA. Hypoxia and AMP independently regulate AMP-activated protein kinase activity in heart [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(5): H2412–H2421.
- [10] WANG LM, WANG YJ, CUI M, et al. A dietary polyphenol resveratrol acts to provide neuroprotection in recurrent stroke models by regulating AMPK and SIRT1 signaling, thereby reducing energy requirements during ischemia[J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 37(10): 1669–1681.
- [11] MIHAYLOVA MM, SHAW RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(9): 1016–1023.
- [12] ASHABI G, KHODAGHOLI F, KHALAJ L, et al. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin protects against global cerebral ischemia in male rats: interference of AMPK/PGC-1alpha pathway[J]. *Metab Brain Dis*, 2014, 29(1): 47–58.
- [13] HARDIE DG, ROSS FA, HAWLEY SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(4): 251–262.
- [14] SARKAKI A, FARBOOD Y, BADAVI M, et al. Metformin improves anxiety-like behaviors through AMPK-dependent regulation of autophagy following transient forebrain ischemia[J]. *Metab Brain Dis*, 2015, 30(5): 1139–1150.

(编辑 孙慧兰)