

本文章已註冊DOI數位物件識別碼

▶ 運動與AMPK：探討運動對能量代謝系統急性與長期適應性反應之分子調控機制

Exercise and AMPK: The Molecular Regulation Mechanism of Energy Metabolic System in Acute Exercise Stimulation and Long Term Training Effects

doi:10.6127/JEPF.2005.02.03

運動生理暨體能學報, (2), 2005

Journal of Exercise Physiology and Fitness, (2), 2005

作者/Author：廖翊宏(Yi-Hung Liao);陳美枝(Mei-Chih Chen);陳慕聰(Mu-Tsung Chen);郭家驊(Chia-Hua Kuo)

頁數/Page：31-44

出版日期/Publication Date：2005/04

引用本篇文獻時，請提供DOI資訊，並透過DOI永久網址取得最正確的書目資訊。

To cite this Article, please include the DOI name in your reference data.

請使用本篇文獻DOI永久網址進行連結:

To link to this Article:

<http://dx.doi.org/10.6127/JEPF.2005.02.03>



DOI Enhanced

DOI是數位物件識別碼（Digital Object Identifier, DOI）的簡稱，是這篇文章在網路上的唯一識別碼，用於永久連結及引用該篇文章。

若想得知更多DOI使用資訊，

請參考 <http://doi.airiti.com>

For more information,

Please see: <http://doi.airiti.com>

請往下捲動至下一頁，開始閱讀本篇文獻

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE



運動與 AMPK：探討運動對能量代謝系統急性與長期適應性 反應之分子調控機制

廖翊宏¹ 陳美枝² 陳慕聰³ 郭家驊²

¹國立陽明大學物理治療研究所 ²台北市立體育學院球類運動學系 ³實踐大學體育室

摘要

5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) 之主要功能為細胞能量狀態的感測者，並調節細胞代謝途徑之運作。運動或肌肉收縮可提高細胞內 AMP/ATP 之比值，使 AMPK 產生異位調控作用並提升被 LKB1 (AMPKK) 活化的程度；AMPK 活化後，會啟動 eNOS-NO-cGMP-PKG、p38MAPK 等訊息系統增加 GLUT4 的轉位與活化，增加葡萄糖吸收能力。此外，長期運動訓練可能亦透過重複活化 AMPK 訊息系統，提高 CaMK-IV 與 PGC-1 α 基因與蛋白質表現並調節下游轉錄因子表現，同時亦活化 eNOS-NO 訊息，進而引起肌肉粒腺體增生、GLUT4 蛋白合成、肝醣儲存量提高、微血管增生與肌纖維型態轉變等訓練適應效應。

關鍵詞：AMPK、LKB1、葡萄糖類吸收、粒腺體合成、血管增生反應

連絡作者：陳慕聰

聯絡電話：(02) 25774624 轉 831

投稿日期：94 年 2 月

通訊地址：台北市中山區大直街 70 號 實踐大學體育室

E-mail：bruce@mail.usc.edu.tw；mmrabbit@ms57.url.com.tw

接受日期：94 年 3 月

前言

目前已知急性運動刺激與長期運動訓練均會對身體各個系統均造成明顯的生理變化，例如：內分泌系統、肌肉骨骼系統、心臟血管系統等 (El-Sayed, El-Sayed Ali, & Ahmadizad, 2004; Jeukendrup, 2003; Murphy & Carroll, 2003)；此外，流行病學研究亦顯示，運動訓練對於預防慢性疾病有極為明顯的效果 (Roberts & Barnard, 2005)。然而，對於運動如何引起這些外在生理變化及健身效益背後的分子調控機制，學界至今仍然沒有清楚的答案。目前，分子生物學的進步已經將運動生理學領域向前推進一大步 (Booth, 1988)；在能量代謝方面，AMPK 在運動時對細胞代謝系統的影響，當屬於最近運動生理學界的重大發現之一，但 AMPK 的發現也帶來更多未知但有趣的研究問題 (Winder & Hardie, 1999)。因此，本篇回顧文章的主要針對最近與 AMPK 相關的研究報告作簡短之歸納，同時將討論運動時 AMPK 對於細胞代謝系統與長期適應變化的可能調控機制，並提供目前此研究領域仍然未知的研究方向給予國內運動生理學界的先進作為參考。由於運動涉及的系統與分子變化相當複雜，所以本文將不會針對運動在其他系統與其他粒腺體蛋白質的刺激調控機制多作闡述，倘若對上述其他系統變化有興趣的讀者可以參考以下幾篇綜論性文獻，希望能夠獲得您所需要的資訊 (Moyna & Thompson, 2004; Schrauwen & Hesselink, 2003; Smith & Zigmond, 2003)。

運動科學領域 AMPK 研究的開端 (AMPK-activated protein kinase)

1970 年代，某些學者在研究肝臟 acetyl-CoA carboxylase (ACC，調控脂肪酸合成) 與 3-hydroxyl-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR，調控膽固醇合成) 時，發現細胞可能存在某些蛋白激酶使 ACC 與 HMGR 被磷酸化導致這兩種酵素失去活性，但初期並未重視兩者間的關聯性 (Beg, Allmann, & Gibson, 1973; Brown, Brunschede, & Goldstein, 1975; Carlson & Kim, 1973)；稍後，學者才證實細胞中 5'-AMP 濃度提高可能導致這些未知的蛋白激酶活化，進而抑制 ACC 與 HMGR 的活性 (Ferrer, Caelles, Massot, & Hegardt, 1985; L. Yeh, Lee, & Kim, 1980)，而且這些受到 AMP 濃度升高所抑制的生化反應可能均受到同一種蛋白激酶的影響。直至 1988 年，英國學者 Hardie 才將這個受到 5'-AMP 活化的蛋白激酶定名為 5'-AMP-activated protein kinase (簡稱 AMPK) (Sim & Hardie, 1988)。

1989 年，Davies et al. 指出 AMPK 也會在老鼠的骨骼肌組織表現 (Davies, Carling, & Hardie, 1989)，這個重要發現引導運動科學界探討 AMPK 涉及運動刺激時肌細胞代謝反應變化的可能性。而將 AMPK 與運動科學研究連結的濫觴為 Winder et al. 於 1996 年發表在美國生理學期刊的研究報告；該研究首次證實老鼠以跑步機運動後，骨骼肌的 AMPK 活性明顯提升達 2.4 倍 (Winder & Hardie, 1996)。之後，科學家陸續發現 AMPK 不但在運動時立刻調節細胞代謝途徑 (提升葡萄糖吸收能力、增加游離脂肪酸氧化、抑制生物合成反應等)，同時也可能調控代謝相關蛋白的基因表現；此外，由於運動對糖尿病的治療效應，也使得糖尿病研究領域將 AMPK 訊

息傳遞系統視為糖尿病藥物研發的關鍵之一
(Winder & Hardie, 1999)。

AMPK 的分子結構與活化調控機制

AMPK 之分子結構

AMPK 為一種異三聚體蛋白質 (heterotrimeric protein complex) 由 α 、 β 、 γ 三種次單元所組成 (Rutter, Da Silva Xavier, & Leclerc, 2003)。 α 次單元具有特殊磷酸化位置 (Thr¹⁷²) 負責整個蛋白複合體的主要催化功能 (Rutter et al., 2003)，且 AMPK 的活性主要以 $\alpha 2$ 為主 (約佔 AMPK 全體活性之 66%)，原因可能是 $\alpha 2$ 對 AMP 的敏感度較 $\alpha 1$ 為佳 (Fujii et al., 2000; Winder, 2001)。 β 次單元上有提供 α 與 γ 次單元的鍵結位置，其功能為支架分子並維持複合體穩定與調節酵素活性 (Aschenbach, Sakamoto, & Goodyear, 2004)。 γ 次單元推測可能是與 AMP 鍵結的次單元，而且 γ 次單元上已發現兩個核酸結合位置並受 AMP 異位調控所控制，顯示 AMPK 可能具有轉錄因子的功能 (Aschenbach et al., 2004; Scott et al., 2004)。

AMPK 活化的分子機制

當細胞中 ATP 被水解 ($\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i + \text{能量}$ ；ADP 可再被水解為 AMP) 會釋出能量供細胞使用。那麼細胞的能量感測系統為何不感應 ADP 呢？由於細胞內的 adenylate kinase (催化 $2\text{ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{AMP}$) 會使 ADP 之能量重新回到 ATP 分子，因此細胞中的穩定 ADP 分子並不多，所以可能感應 ATP/AMP 比率代表細胞能量變化會比 ATP/ADP 更加敏感 (Hardie & Hawley,

2001)。

哺乳動物的 AMPK 分子受 5'-AMP 活化主要透過下列三種不同的模式：(一) AMP 與 AMPK 結合，對 AMPK 分子產生異位調控活化 (allosteric activation)，活化程度約可提高 5~10 倍 (Hardie, 2004)；(二) AMP 與 AMPK 結合後，改變 AMP/AMPK 複合體 (complex) 的分子結構，使其更容易被上游分子 (LKB1 複合體/AMPK Kinase) 磷酸化 (α 次單元活化區的 Thr¹⁷²) 並提高活性，這種反應可以使 AMPK 的活化程度提高超過 100 倍以上，是 AMPK 活化最重要的一部份 (D. G. Hardie, 2004)；(三) AMP 與 AMPK 結合後可抑制蛋白磷酸酶 (protein phosphatase) 對 α Thr¹⁷² 的去磷酸化反應，使酵素活性得以維持 (Hardie, 2004)。

AMPK 上游分子的新發現—LKB1

已知，AMPK 在活化過程中會被上游分子 AMPKK 磷酸化 (D. G. Hardie, 2004)。最近發現 LKB1 可能是 AMPK 的重要上游訊息分子 (Woods et al., 2003)；LKB1 是一種與癌症發生有關的蛋白激酶，若該蛋白質的基因發生突變將會導致 Peutz-Jeghers 氏癌症發生 (Shaw et al., 2004)。研究證據顯示，LKB1 複合體 (LKB1-STRAD-MO25) 會透過磷酸化 AMPK 蛋白 α T-loop 中的 Thr¹⁷² 使 AMPK 活性提高 (Woods et al., 2003)。若細胞的 LKB1 蛋白無法正常表現功能，則 AMPK 將無法被 AMPK 活化物所活化 (Hawley et al., 2003; Woods et al., 2003)。由於 LKB1 在 AMPK 活化過程中的重要性已被證實，最近學者也認為 LKB1 複合體即為 AMPKK (Taylor et al., 2004)。

那麼肌肉收縮刺激或運動造成 AMPK 活化，是否透過活化 LKB1 所達成的呢？Sakamoto et al. 證實離體肌肉以 AMPK 活化物與電刺激收縮並不會增加 LKB1 的磷酸化程度，但均能顯著提升 AMPK 的活性 (Sakamoto, Goransson, Hardie, & Alessi, 2004)；然而，以 AMPK 活化物刺激無法正常表現 LKB1 的細胞，仍無法提高 AMPK 活性 (Hawley et al., 2003; Woods et al., 2003)。此外，Taylor et al. 亦發現老鼠進行 10 週耐力運動訓練後造成肌肉組織 LKB1 蛋白的表現量明顯提升 (Taylor et al., 2004)。因此，目前 LKB1 活化 AMPK 的假說認為 LKB1 複合體活化 AMPK 的機制應類似胰島素訊息路徑中 PDK1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1) 活化 PKB (protein kinase B) 的過程；所以當 AMPK 與 AMP 結合後，將使 AMP/AMPK 的複合體更容易被上游訊息蛋白 LKB1 活化 (Sakamoto et al., 2004)。但目前關於運動對 LKB1 調控機制的研究仍然相當稀少，許多機制仍停留在假說階段，值得後續研究多加探討。

AMPK 在運動醣類代謝調控機制所扮演的角色

AMPK 刺激肌肉葡萄糖吸收之機制與胰島素訊息相異

肌肉收縮與活體運動均可大幅提高肌肉葡萄糖吸收能力 (Richter et al., 2004)；同時，上述刺激下骨骼肌組織 AMPK $\alpha 2$ Thr¹⁷² 位置的磷酸化程度明顯提升，使 AMPK 活性快速增加 (Hayashi et al., 2000; Hayashi, Hirshman,

Kurth, Winder, & Goodyear, 1998)。不論活體或離體肌肉組織在給予 AICAR 後，均會動員肌肉細胞內 GLUT4 蛋白轉位至細胞膜表面並明顯提高肌肉葡萄糖吸收 (Hayashi et al., 2000; Lemieux, Konrad, Klip, & Marette, 2003)。目前發現，胰島素與運動刺激並非透過同一訊息路徑動員 GLUT4 蛋白轉位與吸收葡萄糖 (Zierath, 2002)。肌肉組織以 wortmannin 處理後，胰島素刺激 GLUT4 蛋白轉位與葡萄糖吸收被明顯抑制 (Lund et al., 1998; Yeh, Gulve, Rameh, & Birnbaum, 1995)；然而，wortmannin 卻對運動、肌肉收縮與 AICAR 刺激造成的葡萄糖吸收現象沒有影響 (Hayashi et al., 1998)；此外，肌肉組織在胰島素刺激下給予收縮刺激及 AICAR 會引起葡萄糖吸收之加成效應，但 AICAR 與肌肉收縮並無加成效應 (Bergeron et al., 1999; Lund, Holman, Schmitz, & Pedersen, 1995)。這說明胰島素與運動或 AMPK 刺激葡萄糖吸收的訊息傳遞機制是互相獨立的，且運動可能即是依賴 AMPK 訊息系統刺激肌肉組織之葡萄糖吸收。

AMPK/eNOS 訊息系統與運動刺激肌肉葡萄糖吸收現象

AMPK 活化後啟動哪些訊息分子來動員 GLUT4 蛋白及增加葡萄糖吸收，目前詳細機制仍不清楚。最近發現 AMPK 會使內皮細胞一氧化氮合成酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 活化部位磷酸化程度提高 (Ser¹¹⁷⁷) 並降低抑制部位磷酸化 (Thr⁴⁹⁵)，進而增加 eNOS 活性使 NO 產量升高 (Chen et al., 1999; Nagata, Mogi, & Walsh, 2003)。骨骼肌細胞 NO 的產生直接或間接與葡萄糖吸收

有關，此機制可能透過 NO 活化 guanylate cyclase 使 cGMP 之產量增加，進而活化 PKG 蛋白 (cGMP-dependent protein kinase) 刺激醣類吸收 (Young, Radda, & Leighton, 1997)。若以一氧化氮合成酶抑制劑 (*N*^ω-nitro-L-arginine, L-NAME) 或 guanylate cyclase 抑制劑 (LY-83583) 處理骨骼肌，將會立即減少 AICAR 刺激肌肉葡萄糖的吸收量，但並不影響 AICAR 提高 AMPK 活性的效應 (Fryer et al., 2000)；此外，給予活體老鼠 L-NAME 亦導致 AICAR 刺激肌肉吸收葡萄糖的能力被部分抑制 (Shearer et al., 2004)。Li et al. 也發現離體心肌以 NO 產生劑 (NO donor) 與 AICAR 處理後均可顯著提升 GLUT4 蛋白轉位與醣類吸收能力，但加入 L-NAME 或 LY-83583 後會明顯降低上述促進效應 (Li et al., 2004)。

NO 另有舒張血管與增加血流的功能 (Hickner, Fisher, Ehsani, & Kohrt, 1997)，且已知運動會導致血管舒張及提高血流速度，進而增加肌肉組織葡萄糖吸收 (Hallsten et al., 2003; Kingwell, 2000)。但運動促進醣類吸收，究竟是直接促進肌肉醣類運輸訊息系統，抑或是透過增加血液灌流量增加醣類吸收能力，目前仍無定論。Bradley et al. 在受試者運動時從股動脈注入 L-NAME (5 mg/kg) 與安慰劑並比較血流速度與血糖吸收能力 (動靜脈間血糖濃度差 × 血流速度)，他們發現給予 L-NAME 對下肢血流速度與血漿胰島素濃度並無影響，但卻導致血糖吸收能力明顯下降達 48% (Bradley, Kingwell, & McConell, 1999)。因此，AMPK/eNOS 訊息路徑 (NO-cGMP-PKG cascade) 似乎在運動刺激時直接扮演關鍵下游訊息傳遞者的角色，並提高骨骼肌 GLUT4 蛋白轉位與葡萄糖吸收效

應。

AMPK 透過 p38 MAPK 活化 GLUT4 蛋白

胰島素除了動員 GLUT4 蛋白轉位外，也會透過活化 mitogen-activated protein kinase kinase 3/6 (MKK 3/6) 與 p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) 訊息，使 GLUT4 蛋白活化 (Michelle Furtado, Poon, & Klip, 2003)。特別的是，肌肉收縮除了動員 GLUT4 蛋白轉位外，也會活化 p38 MAPK (Ryder et al., 2000)。Xi et al. 發現，過度表現活化態 AMPK 的基因轉殖細胞中 p38 MAPK 之磷酸化程度與活性明顯提高；而且，以 p38 MAPK 的抑制劑處理正常細胞後，並不會降低 AICAR 活化 AMPK 的程度 (Xi, Han, & Zhang, 2001)。Lemieux et al. 以 AICAR 處理骨骼肌細胞後發現 p38 MAPK α/β 的磷酸化與葡萄糖吸收均顯著提升，但經 p38 MAPK 抑制劑處理後，AICAR 刺激葡萄糖吸收效應被明顯抑制 (Lemieux et al., 2003)。這些結果證實 AMPK 是 p38 MAPK 的上游分子，而且顯示運動刺激引發 AMPK 活化後，使得葡萄糖吸收提高可能透過兩個機制：(一) 動員 GLUT4 蛋白轉位至細胞膜表面，(二) 透過活化 p38 MAPK α/β 使細胞膜表面的 GLUT4 蛋白活化。

鈣離子可能與 AMPK 共同調節運動刺激之葡萄糖吸收

根據基因轉殖研究顯示，AMPK 可能並非運動刺激葡萄糖吸收唯一依賴的訊息系統。Mu et al. 利用 kinase-dead AMPK $\alpha 2$ 基因轉殖鼠之離體肌肉進行收縮與低氧刺激的比較，發現來自基因轉殖鼠的肌肉在低氧刺激下 GLUT4 蛋白轉位與葡萄糖吸收幾乎完全被

抑制，但肌肉收縮效應只降低 30% (Mu, Brozinick, Valladares, Bucan, & Birnbaum, 2001)。此外，肌肉收縮會動員肌細胞內 GLUT4 蛋白轉位至肌細胞膜與橫管 (transverse tube, T-tube)，同時提高葡萄糖的運輸與利用 (Roy, Johannsson, Bonen, & Marette, 1997; Roy & Marette, 1996)。然而，活體老鼠下肢灌流 AICAR 後，肌肉 AMPK 活性、葡萄糖吸收能力與 GLUT4 蛋白轉位至肌細胞膜之數量均大幅提升，但 GLUT4 蛋白並未轉位至橫管表面 (Lemieux et al., 2003)。橫管面積佔肌細胞總細胞表面積達 60~80% (Cullen, Hollingworth, & Marshall, 1984)，因此活化 AMPK 應無法達到與肌肉收縮相同的葡萄糖吸收效應，所以運動或肌肉收縮刺激可能同時透過其他機制調控醣類吸收。

最近，Wright et al. 發現利用咖啡因刺激骨骼肌肌漿網膜釋放次收縮濃度之鈣離子後會顯著提高 calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK-II) 的磷酸化並提高葡萄糖吸收量，但該現象會被 Ca^{2+} -CaMK 抑制劑 (KN62 與 KN93) 所抑制；更重要的是，同時給予肌肉 AICAR 與咖啡因的效果 (AICAR 與咖啡因的加成效應) 與肌肉收縮刺激提升葡萄糖吸收量並無顯著差異 (Wright, Hucker, Holloszy, & Han, 2004)，似乎肌肉收縮刺激醣類吸收即是依賴 AMPK 與鈣離子的訊息系統共同調控。然而，鈣離子是否會增加 GLUT4 蛋白轉位至橫管表面，目前仍不清楚，故仍具相當的研究價值。

運動訓練調節代謝相關基因表現與運動適應效應：AMPK 之角色

長期活化 AMPK 可增加代謝相關酵素之基因表現

AMPK 是否也調節運動產生的長期適應效應，目前學界對這個問題的答案仍未完全瞭解。但最近發現，實驗動物持續注射 AICAR 或將離體肌肉長時間置於含 AICAR 的培養液中持續活化 AMPK 後，肌肉組織會出現類似長期運動訓練的適應效應，包括：肌肉肝醣儲存量、GLUT4、Hexokinase II、粒腺體酵素等代謝相關蛋白表現量均明顯增加 (Aschenbach et al., 2002; E. O. Ojuka, Nolte, & Holloszy, 2000; Winder et al., 2000)；此外，活體骨骼肌也會出現結構性與生理性的改變，例如：粒腺體密度增加、骨骼肌型態改變、胰島素敏感度提升 (Bergeron et al., 2001; Fisher, Gao, Han, Holloszy, & Nolte, 2002; Suwa, Nakano, & Kumagai, 2003)。此外，運動導致肌肉細胞內部 AMPK α 2 轉位進入細胞核的數量提高達 2 倍之多，顯示運動可能刺激 AMPK 進入細胞核直接調節代謝基因表現 (McGee et al., 2003)。這些結果均顯示長期運動訓練之適應效應極可能是透過重複刺激與活化 AMPK 訊息系統的機制所產生，以下就最近的研究結果作進一步說明。

AMPK 調控下游分子 CaMK-IV 與 PGC-1 α 引起運動適應反應

近年來，CaMK-IV 與 peroxisome proliferators-activated receptor- γ coactivator-1 α (PPAR γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 被發現有調節代謝相關蛋白基因表現的功能 (Michael et al., 2001; Nolte et al., 2002; Ojuka, Jones, Han et al., 2002; Ojuka, Jones, Puigserver et al., 1998; Wu H. et al., 2002; Wu Z et al., 1999)。證

據顯示，CaMK-IV 受鈣離子活化後，會與 calcineurin 協同活化相關基因使肌纖維轉型為慢肌；PGC-1 α 是一種細胞核內受器的共同活化因子 (coactivator)，該蛋白會與許多不同的基因轉錄因子結合進而提高 DNA 轉錄活性 (Ojuka, 2004)，而且運動可明顯提高 PGC-1 α 的基因表現 (Terada et al., 2002)。此外，CaMK-IV 與 PGC-1 α 均已被證實與粒腺體和 GLUT4 蛋白合成有關 (Michael et al., 2001; Ojuka, 2004; Wu H. et al., 2002; Wu Z et al., 1999)。

最近研究發現，運動訓練與長期給予 AICAR 活化 AMPK 後，均會造成 CaMK-IV 與 PGC-1 α 的基因與蛋白表現量增加 (Michael et al., 2001; Suwa et al., 2003; Terada et al., 2002; Zong et al., 2002)。那麼 AMPK 是否為 CaMK-IV 與 PGC-1 α 的上游調控者呢？Zong et al. 給予老鼠長期服用 β -GPA 引起骨骼肌細胞 AMPK 活性提高，且 PGC-1 α 與 CaMK-IV 的表現量亦顯著上升，同時粒腺體合成亦增加；然而，在 AMPK 無法活化的 DN-AMPK 基因轉殖鼠之肌肉組織卻無法觀察到這些現象 (Zong et al., 2002)。Wu et al. 觀察可持續活化 CaMK-IV 的基因轉殖鼠，發現骨骼肌 CaMK-IV 使 PGC-1 表現量與粒腺體合成顯著增加，而且肌肉細胞 PGC-1 基因啟動子也有明顯活化的現象；有趣的是，此基因轉殖鼠的肌肉收縮力量大增，而且慢縮肌纖維比例亦大幅提高 (H. Wu et al., 2002)。以上基因轉殖實驗可直接證實 AMPK 為 CaMK-IV 上游分子，同時也顯示 PGC-1 的基因表現是受 CaMK-IV 所調控。

由於 CaMK-IV 與 PGC-1 α 亦調控許多其他代謝相關基因轉錄因子的表現或活化，包

括：nuclear respiratory factors (NRF-1/2) — 增加粒腺體呼吸鏈酵素的蛋白表現，mitochondrial transcription factor A (mtTFA) — 活化粒腺體本身基因體之基因表現 (Z. Wu et al., 1999)，myocyte-enhancing factor 2 (MEF-2) — 調節 GLUT4 蛋白基因表現的重要轉錄因子 (Ojuka, 2004)。此外，肌肉細胞內之 GLUT4 蛋白含量增加，已證實可提高該組織的胰島素敏感度與肝糖儲存量 (Ivy, Zderic, & Fogt, 1999; Kuo, Browning, & Ivy, 1999)。因此，運動訓練可能透過重複活化 AMPK 引起 CaMK-IV 與 PGC-1 α 基因與蛋白質表現提高並增加下游基因轉錄因子表現的機制，進而提高肌肉組織運動訓練之生理適應變化。

AMPK 在運動刺激微血管增生現象的可能角色

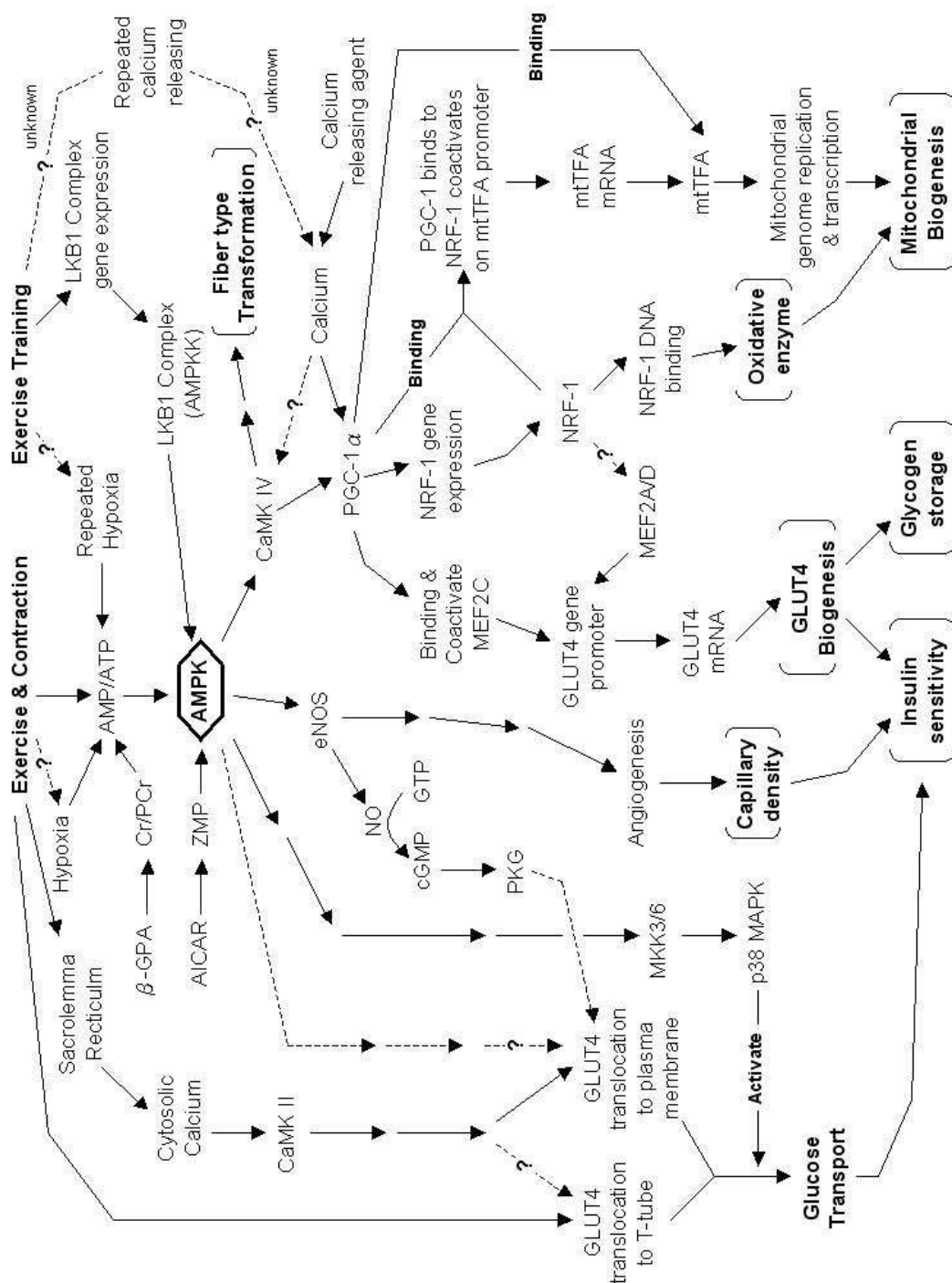
長期運動訓練可引發血管增生反應並增加肌肉組織微血管密度 (Prior, Yang, & Terjung, 2004)。運動刺激使骨骼肌血管增生的可能機制為：(一) 運動訓練提高血管增生因子 (VEGF、VEGF receptor、angiopoietin receptor、eNOS) 的基因表現 (Hickner et al., 1997)；(二) 運動過程可能導致肌肉組織發生低氧而刺激血管增生反應 (Wagner, 2001)。此外，證據顯示低氧會造成骨骼肌 AMPK 活性與 NO 產量明顯增加 (Mu et al., 2001; Nagata et al., 2003)，但 AMPK/eNOS 訊息系統是否是運動引起之血管增生現象的關鍵機制呢？Nagata et al. 以低氧處理血管內皮細胞發現 eNOS 活化位置磷酸化 (Ser¹¹⁷⁷) 明顯提升，內皮細胞也逐漸形成類血管結構 (vascular-like structure)；然而，低氧作用於

negative-domain AMPK 基因轉植細胞上，則未出現明顯變化 (Nagata et al., 2003)。因此，運動時肌肉可能重複發生低氧造成 AMPK 持續活化 (能量消耗亦活化 AMPK) 並啟動 AMPK-eNOS-NO 系統引起血管增生；然而，此部份的詳細機制目前仍未完全瞭解，仍具相當大的研究空間。

結論

運動刺激使 AMPK 產生異位調控且受 LKB1 影響大幅提高活性，並啟動 p38MAPK、eNOS-NO-cGMP-PKG 訊息系統增加 GLUT4 轉位與活化，同時亦透過 Ca^{2+} -CAMK-II 訊息與其他未知的分子機制共同調

控運動時的急性醣類吸收效應。另外，根據現有的證據，我們可初步歸納出 AMPK 調控長期運動代謝適應的可能模式；運動訓練時透過重複活化 AMPK 引起細胞內 CaMK-IV 與 PGC-1 α 之基因與蛋白質表現提高並增加下游轉錄因子表現，同時亦造成 eNOS-NO 的訊息路徑活化，進而引起肌肉組織粒腺體增生、GLUT4 蛋白合成、肝醣儲存量提高、微血管增生與肌纖維型態轉變等訓練適應效應 (可能機制圖，見圖一)。雖然這些變化機制的發現對於運動增能研究與運動對糖尿病預防及治療領域均有重大突破；然而，本回顧文章亦指出許多目前科學界仍未解答的重要問題，而這些方向也值得國內先進作為後續研究的參考。



圖一 AMPK 在急性運動刺激與長期訓練適應效應中對骨骼肌組織糖類代謝系統之影響

箭號說明：→，實線箭號為目前確定之訊息路徑；—→，虛線箭號表示目前已知的訊息路徑且推測會造成下游生理變化，但該訊息後的調控機制仍不清楚；-?→，虛線加問號之箭號表示可能的訊息路徑，但目前仍未被研究過。(附圖註：機制圖內的分子與蛋白質縮寫之全名，均可參考本文內容)

引用文獻

- Aschenbach, W., Sakamoto, K., & Goodyear, L. (2004). 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase, metabolism and exercise. *Sports Med*, 34(2), 91-103.
- Aschenbach, W. G., Hirshman, M. F., Fujii, N., Sakamoto, K., Howlett, K. F., & Goodyear, L. J. (2002). Effect of AICAR Treatment on Glycogen Metabolism in Skeletal Muscle. *Diabetes*, 51(3), 567-573.
- Beg, Z., Allmann, D., & Gibson, D. (1973). Modulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity with cAMP and with protein fractions of rat liver cytosol. *Biochem Biophys Res Commun*, 54(4), 1362-1369.
- Bergeron, R., Ren, J. M., Cadman, K. S., Moore, I. K., Perret, P., Pypaert, M., et al. (2001). Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281(6), E1340-1346.
- Bergeron, R., Russell, R. R., III, Young, L. H., Ren, J.-M., Marcucci, M., Lee, A., et al. (1999). Effect of AMPK activation on muscle glucose metabolism in conscious rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 276(5), E938-944.
- Booth, F. W. (1988). Perspectives on molecular and cellular exercise physiology. *J Appl Physiol*, 65(4), 1461-1471.
- Bradley, S., Kingwell, B., & McConell, G. (1999). Nitric oxide synthase inhibition reduces leg glucose uptake but not blood flow during dynamic exercise in humans. *Diabetes*, 48(9), 1815-1821.
- Brown, M. S., Brunschede, G. Y., & Goldstein, J. L. (1975). Inactivation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in vitro. An adenine nucleotide-dependent reaction catalyzed by a factor in human fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 250(7), 2502-2509.
- Carlson, C. A., & Kim, K.-H. (1973). Regulation of hepatic acetyl coenzyme A carboxylase by phosphorylation and dephosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 248(1), 378-380.
- Chen, Z., Mitchelhill, K., Michell, B., Stapleton, D., Rodriguez-Crespo, I., Witters, L., et al. (1999). AMP-activated protein kinase phosphorylation of endothelial NO synthase. *FEBS Lett*, 443(3), 285-289.
- Cullen, M., Hollingworth, S., & Marshall, M. (1984). A comparative study of the transverse tubular system of the rat extensor digitorum longus and soleus muscles. *J Anat*, 138 (Pt 2), 297-308.
- Davies, S., Carling, D., & Hardie, D. (1989). Tissue distribution of the AMP-activated protein kinase, and lack of activation by cyclic-AMP-dependent protein kinase, studied using a specific and sensitive peptide assay. *Eur J Biochem*, 186(1), 123-128.
- El-Sayed, M., El-Sayed Ali, Z., & Ahmadi, S. (2004). Exercise and training effects on blood haemostasis in health and disease: an update. *Sports Med*, 34(3), 181-200.
- Ferrer, A., Caelles, C., Massot, N., & Hegardt, F. (1985). Activation of rat liver cytosolic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase kinase by adenosine 5'-monophosphate. *Biochem Biophys Res Commun*, 132(2), 497-504.
- Fisher, J. S., Gao, J., Han, D.-H., Holloszy, J. O., & Nolte, L. A. (2002). Activation of AMP kinase enhances sensitivity of muscle glucose transport to insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282(1), E18-23.
- Fryer, L., Hajdich, E., Rencurel, F., Salt, I., Hundal, H., Hardie, D., et al. (2000). Activation of glucose transport by AMP-activated protein kinase via stimulation of nitric oxide synthase. *Diabetes*, 49(12), 1978-1985.
- Fujii, N., Hayashi, T., Hirshman, M. F., Smith, J. T., Habinowski, S. A., Kaijser, L., et al. (2000). Exercise Induces Isoform-Specific Increase in 5'AMP-Activated Protein Kinase Activity in Human Skeletal Muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 273(3), 1150-1155.
- Hallsten, K., Yki-Jarvinen, H., Peltoniemi, P., Oikonen, V., Takala, T., Kemppainen, J., et al. (2003). Insulin- and Exercise-Stimulated Skeletal Muscle Blood Flow and Glucose Uptake in Obese Men. *Obes Res*, 11(2), 257-265.
- Hardie, D. (2004). AMP-activated protein kinase: a key system mediating metabolic responses to exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 36(1), 28-34.
- Hardie, D. G. (2004). The AMP-activated protein kinase pathway - new players upstream and downstream. *J Cell Sci*, 117(23), 5479-5487.
- Hardie, D., & Hawley, S. (2001). AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. *Bioessays*, 23(12), 1112-1119.
- Hawley, S., Boudeau, J., Reid, J., Mustard, K., Udd, L., Makela, T., et al. (2003). Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol*, 2(4),

- 28.
- Hayashi, T., Hirshman, M., Fujii, N., Habinowski, S., Witters, L., & Goodyear, L. (2000). Metabolic stress and altered glucose transport: activation of AMP-activated protein kinase as a unifying coupling mechanism. *Diabetes*, 49(4), 527-531.
- Hayashi, T., Hirshman, M., Kurth, E., Winder, W., & Goodyear, L. (1998). Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes*, 47(8), 1369-1373.
- Hickner, R. C., Fisher, J. S., Ehsani, A. A., & Kohrt, W. M. (1997). Role of nitric oxide in skeletal muscle blood flow at rest and during dynamic exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 273(1), H405-410.
- Ivy, J., Zderic, T., & Fogt, D. (1999). Prevention and treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Exerc Sport Sci Rev*, 27, 1-35.
- Jeukendrup, A. (2003). Modulation of carbohydrate and fat utilization by diet, exercise and environment. *Biochem Soc Trans*, 31(Pt 6), 1270-1273.
- Kingwell, B. (2000). Nitric oxide as a metabolic regulator during exercise: effects of training in health and disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 27(4), 239-250.
- Kuo, C., Browning, K., & Ivy, J. (1999). Regulation of GLUT4 protein expression and glycogen storage after prolonged exercise. *Acta Physiol Scand*, 165(2), 193-201.
- Lemieux, K., Konrad, D., Klip, A., & Marette, A. (2003). The AMP-activated protein kinase activator AICAR does not induce GLUT4 translocation to transverse tubules but stimulates glucose uptake and p38 mitogen-activated protein kinases {alpha} and {beta} in skeletal muscle. *FASEB J*, 17(12), 1658-1665.
- Li, J., Hu, X., Selvakumar, P., Russell, R. R., III, Cushman, S. W., Holman, G. D., et al. (2004). Role of the nitric oxide pathway in AMPK-mediated glucose uptake and GLUT4 translocation in heart muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287(5), E834-841.
- Lund, S., Holman, G., Schmitz, O., & Pedersen, O. (1995). Contraction Stimulates Translocation of Glucose Transporter GLUT4 in Skeletal Muscle Through a Mechanism Distinct from that of Insulin. *PNAS*, 92(13), 5817-5821.
- Lund, S., Pryor, P., Ostergaard, S., Schmitz, O., Pedersen, O., & Holman, G. (1998). Evidence against protein kinase B as a mediator of contraction-induced glucose transport and GLUT4 translocation in rat skeletal muscle. *FEBS Lett*, 425(3), 472-474.
- McGee, S. L., Howlett, K. F., Starkie, R. L., Cameron-Smith, D., Kemp, B. E., & Hargreaves, M. (2003). Exercise Increases Nuclear AMPK {alpha}2 in Human Skeletal Muscle. *Diabetes*, 52(4), 926-928.
- Michael, L. F., Wu, Z., Cheatham, R. B., Puigserver, P., Adelman, G., Lehman, J. J., et al. (2001). Restoration of insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) gene expression in muscle cells by the transcriptional coactivator PGC-1. *PNAS*, 98(7), 3820-3825.
- Michelle Furtado, L., Poon, V., & Klip, A. (2003). GLUT4 activation: thoughts on possible mechanisms. *Acta Physiol Scand*, 178(4), 287-296.
- Moyna, N., & Thompson, P. (2004). The effect of physical activity on endothelial function in man. *Acta Physiol Scand*, 180(2), 113-123.
- Mu, J., Brozinick, J., Valladares, O., Bucan, M., & Birnbaum, M. (2001). A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. *Mol Cell*, 7(5), 1085-1094.
- Murphy, N., & Carroll, P. (2003). The effect of physical activity and its interaction with nutrition on bone health. *Proc Nutr Soc*, 62(4), 829-838.
- Nagata, D., Mogi, M., & Walsh, K. (2003). AMP-activated Protein Kinase (AMPK) Signaling in Endothelial Cells Is Essential for Angiogenesis in Response to Hypoxic Stress. *J. Biol. Chem.*, 278(33), 31000-31006.
- Ojuka, E. (2004). Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle. *Proc Nutr Soc*, 63(2), 275-278.
- Ojuka, E. O., Jones, T. E., Han, D.-H., Chen, M., Wamhoff, B. R., Sturek, M., et al. (2002). Intermittent increases in cytosolic Ca²⁺ stimulate mitochondrial biogenesis in muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 283(5), E1040-1045.
- Ojuka, E. O., Jones, T. E., Nolte, L. A., Chen, M., Wamhoff, B. R., Sturek, M., et al. (2002). Regulation of GLUT4 biogenesis in muscle: evidence for involvement of AMPK and Ca²⁺. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282(5), E1008-1013.
- Ojuka, E. O., Nolte, L. A., & Holloszy, J. O. (2000). Increased expression of GLUT-4 and hexokinase in rat epitrochlearis muscles exposed to AICAR in vitro. *J Appl Physiol*, 88(3), 1072-1075.
- Prior, B. M., Yang, H. T., & Terjung, R. L. (2004). What makes vessels grow with exercise training? *J*

- Appl Physiol*, 97(3), 1119-1128.
- Puigserver, P., Wu, Z., Park, C. W., Graves, R., Wright, M., & Spiegelman, B. M. (1998). A Cold-Inducible Coactivator of Nuclear Receptors Linked to Adaptive Thermogenesis. *Cell*, 92(6), 829-839.
- Richter, E., Nielsen, J., Jorgensen, S., Frosig, C., Birk, J., & Wojtaszewski, J. (2004). Exercise signalling to glucose transport in skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*, 63(2), 211-216.
- Roberts, C. K., & Barnard, R. J. (2005). Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol*, 98(1), 3-30.
- Roy, D., Johannsson, E., Bonen, A., & Marette, A. (1997). Electrical stimulation induces fiber type-specific translocation of GLUT-4 to T tubules in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 273(4), E688-694.
- Roy, D., & Marette, A. (1996). Exercise induces the translocation of GLUT4 to transverse tubules from an intracellular pool in rat skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 223(1), 147-152.
- Rutter, G., Da Silva Xavier, G., & Leclerc, I. (2003). Roles of 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) in mammalian glucose homeostasis. *Biochem J*, 375(Pt 1), 1-16.
- Ryder, J. W., Fahlman, R., Wallberg-Henriksson, H., Alessi, D. R., Krook, A., & Zierath, J. R. (2000). Effect of contraction on mitogen-activated protein kinase signal transduction in skeletal muscle. involvement of the mitogen- and stress- activated protein kinase 1. *J. Biol. Chem.*, 275(2), 1457-1462.
- Sakamoto, K., Goransson, O., Hardie, D. G., & Alessi, D. R. (2004). Activity of LKB1 and AMPK-related kinases in skeletal muscle: effects of contraction, phenformin, and AICAR. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287(2), E310-317.
- Schrauwen, P., & Hesselink, M. (2003). Uncoupling protein 3 and physical activity: the role of uncoupling protein 3 in energy metabolism revisited. *Proc Nutr Soc*, 62(3), 635-643.
- Scott, J. W., Hawley, S. A., Green, K. A., Anis, M., Stewart, G., Scullion, G. A., et al. (2004). CBS domains form energy-sensing modules whose binding of adenosine ligands is disrupted by disease mutations. *J. Clin. Invest.*, 113(2), 274-284.
- Shaw, R. J., Kosmatka, M., Bardeesy, N., Hurley, R. L., Witters, L. A., DePinho, R. A., et al. (2004). Inaugural Article: The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *PNAS*, 101(10), 3329-3335.
- Shearer, J., Fueger, P. T., Vorndick, B., Bracy, D. P., Rottman, J. N., Clanton, J. A., et al. (2004). AMP Kinase-Induced Skeletal Muscle Glucose But Not Long-Chain Fatty Acid Uptake Is Dependent on Nitric Oxide. *Diabetes*, 53(6), 1429-1435.
- Sim, A., & Hardie, D. (1988). The low activity of acetyl-CoA carboxylase in basal and glucagon-stimulated hepatocytes is due to phosphorylation by the AMP-activated protein kinase and not cyclic AMP-dependent protein kinase. *FEBS Lett*, 233(2), 294-298.
- Smith, A., & Zigmond, M. (2003). Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of parkinsonism. *Exp Neurol*, 184(1), 31-39.
- Suwa, M., Nakano, H., & Kumagai, S. (2003). Effects of chronic AICAR treatment on fiber composition, enzyme activity, UCP3, and PGC-1 in rat muscles. *J Appl Physiol*, 95(3), 960-968.
- Taylor, E. B., Hurst, D., Greenwood, L. J., Lamb, J. D., Cline, T. D., Sudweeks, S. N., et al. (2004). Endurance training increases LKB1 and MO25 protein but not AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287(6), E1082-1089.
- Terada, S., Goto, M., Kato, M., Kawanaka, K., Shimokawa, T., & Tabata, I. (2002). Effects of low-intensity prolonged exercise on PGC-1 mRNA expression in rat epitrochlearis muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 296(2), 350-354.
- Wagner, P. (2001). Skeletal muscle angiogenesis. A possible role for hypoxia. *Adv Exp Med Biol*, 502, 21-38.
- Winder, W. W. (2001). Energy-sensing and signaling by AMP-activated protein kinase in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 91(3), 1017-1028.
- Winder, W. W., & Hardie, D. G. (1996). Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of AMP-activated protein kinase in muscle during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 270(2), E299-304.
- Winder, W. W., & Hardie, D. G. (1999). AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in Type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 277(1), E1-10.
- Winder, W. W., Holmes, B. F., Rubink, D. S., Jensen, E. B., Chen, M., & Holloszy, J. O. (2000). Activation of AMP-activated protein kinase increases mitochondrial enzymes in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 88(6), 2219-2226.
- Woods, A., Johnstone, S. R., Dickerson, K., Leiper, F. C., Fryer, L. G. D., Neumann, D., et al. (2003). LKB1 Is the Upstream Kinase in the

- AMP-Activated Protein Kinase Cascade. *Current Biology*, 13(22), 2004-2008.
- Wright, D. C., Hucker, K. A., Holloszy, J. O., & Han, D. H. (2004). Ca²⁺ and AMPK Both Mediate Stimulation of Glucose Transport by Muscle Contractions. *Diabetes*, 53(2), 330-335.
- Wu, H., Kanatous, S. B., Thurmond, F. A., Gallardo, T., Isotani, E., Bassel-Duby, R., et al. (2002). Regulation of Mitochondrial Biogenesis in Skeletal Muscle by CaMK. *Science*, 296(5566), 349-352.
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., et al. (1999). Mechanisms Controlling Mitochondrial Biogenesis and Respiration through the Thermogenic Coactivator PGC-1. *Cell*, 98(1), 115-124.
- Xi, X., Han, J., & Zhang, J.-Z. (2001). Stimulation of Glucose Transport by AMP-activated Protein Kinase via Activation of p38 Mitogen-activated Protein Kinase. *J. Biol. Chem.*, 276(44), 41029-41034.
- Yeh, J.-I., Gulve, E. A., Rameh, L., & Birnbaum, M. J. (1995). The Effects of Wortmannin on Rat Skeletal Muscle. *J. Biol. Chem.*, 270(5), 2107-2111.
- Yeh, L., Lee, K., & Kim, K. (1980). Regulation of rat liver acetyl-CoA carboxylase. Regulation of phosphorylation and inactivation of acetyl-CoA carboxylase by the adenylate energy charge. *J. Biol. Chem.*, 255(6), 2308-2314.
- Young, M., Radda, G., & Leighton, B. (1997). Nitric oxide stimulates glucose transport and metabolism in rat skeletal muscle in vitro. *Biochem J*, 322 (Pt 1), 223-228.
- Zierath, J. R. (2002). Exercise Effects of Muscle Insulin Signaling and Action: Invited Review: Exercise training-induced changes in insulin signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 93(2), 773-781.
- Zong, H., Ren, J. M., Young, L. H., Pypaert, M., Mu, J., Birnbaum, M. J., et al. (2002). AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *PNAS*, 99(25), 15983-15987.

Exercise and AMPK: the Molecular Regulation Mechanism of Energy Metabolic System in Acute Exercise Stimulation and Long Term Training Effects

Liao Yi-Hung¹ Chen Mei-Chih² Chen Mu-Tsung³ Kuo Chia-Hua²

¹National Yang-Ming University ²Taipei Physical Education College ³Shih Chien University

ABSTRACT

5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) plays a central role as the intracellular energy sensor, and regulates various cellular metabolic pathways. Both exercise and muscle contraction, which result in the elevation of the ratio of AMP and ATP, cause the conformation change and allosteric regulation of AMPK molecule; then AMPK can be activated obviously by the upstream regulator LKB1 (AMPKK). After AMPK activated, AMPK is able to phosphorylate eNOS-NO-cGMP-PKG and p38MAPK signaling systems to induce GLUT4 containing vesicles translocation and activation, which enhance skeletal muscle glucose uptake. Moreover, exercise training-induced physiological adaptations might be mediated by AMPK signaling. It has been shown that repeated AMPK activation elevates the gene and protein level of CaMK-IV and PGC-1 α , then initiates several downstream gene transcription factors activation and expression; simultaneously, AMPK also causes eNOS-NO signaling activation. It thus appears that exercise training induces muscle glycogen storage, angiogenesis, fiber type transformation, GLUT4 content, and mitochondrial biogenesis through the above AMPK-activated intracellular pathways.

Key words: AMPK, LKB1, Glucose uptake, Mitochondrial biogenesis, Angiogenesis