

생체 에너지 대사 조절에서 AMPK의 역할

경희대학교 의과대학 생화학분자생물학교실

하주현 · 이수호

Role of AMPK in the Regulation of Cellular Energy Metabolism

Joohun Ha, Sooho Lee

Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine, Kyung Hee University

서 론

현대사회에서는 비만, 당뇨병, 고지혈증 및 심혈관계 질환 등으로 나타나는 복합적 원인으로 대사 장애가 급격히 증가하고 있다. 그 중에서도 특히 에너지 항상성의 불균형은 근육, 간, 그리고 지방 세포의 기능 이상을 초래하고, 그로 인해 대사성 질환이 발생된다[1]. 에너지 대사 조절의 이상은 인슐린 저항성에 기인하며, 이는 대사 장애의 다양한 병리생리학적 요인으로 작용할 것으로 생각되지만, 이에 대한 자세한 조절 메커니즘은 밝혀져 있지 않은 상황이다[2]. 최근 연구 결과들은 AMPK (AMP-activated protein kinase)를 중심으로 생체 내의 에너지 인식 및 항상성 조절이 이루어지며, 당과 지방의 대사에 있어서 중요한 역할을 한다는 사실을 밝히고 있으며, 이러한 에너지 센서의 이상은 대사성 질환을 비롯한 심혈관계 질환, 암 발생과도 연관성이 높은

것으로 나타나고 있다[3].

세포 내의 에너지 항상성 유지에 센서 역할을 하는 효소인 AMPK는 대사성 스트레스나 운동에 의해 세포 내의 에너지가 감소하는 경우, 즉 ATP가 고갈되어 AMP/ATP 비율이 증가하는 경우에서 활성화되어 ATP를 소비하는 과정(예를 들어, 지방산 합성과 콜레스테롤 합성)을 억제하고 ATP를 생산하는 과정(예를 들어, 지방산 산화와 해당과정)을 촉진한다[4](Fig. 1). AMPK의 활성화에 대한 효과는 에너지 대사 조절과 밀접하게 연관되어 있는 표적장기(간, 근육, 지방, 췌장)에 관여되어 있다[5]. 간에서 AMPK가 활성화가 되면 지방산과 콜레스테롤의 합성을 억제하고 지방산의 산화를 촉진한다. 골격근에서 AMPK가 활성화되면 지방산의 산화와 당 흡수를 촉진하며 지방세포에서는 지방분해와 지방생성을 억제한다. 또한 췌장 β세포에서 AMPK의 활성화는 인슐린 분비를 촉진시킨다. 이러한 AMPK의 역할과 관

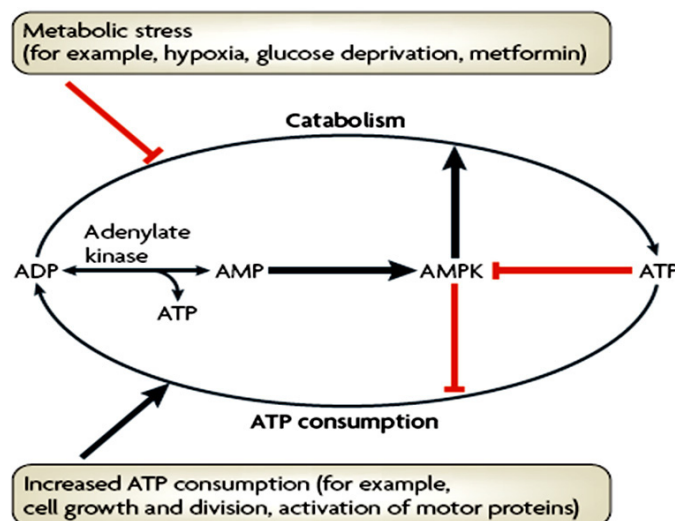


Fig. 1. Regulation of energy homeostasis of the AMPK system. Figure from Hardie DG, 2007[4].

련하여 대사성 질환의 약물 타겟으로 많은 연구가 이루어져 왔다. 이러한 관점에서 볼 때, AMPK는 대사성 질환의 발생에 있어 중추적인 역할을 담당하고 있을 가능성을 의미한다[6]. 본 강좌에서는 지금까지의 여러 연구결과들을 바탕으로 전반적인 대사 작용의 조절에 대한 AMPK의 역할에 대해 살펴보고자 한다.

1. AMPK의 구조

AMPK는 serine/threonine kinase의 일원으로 하나의 catalytic α subunit ($\alpha 1$ 또는 $\alpha 2$)과 두 개의 regulatory subunit β ($\beta 1$ 또는 $\beta 2$)와 γ ($\gamma 1$, $\gamma 2$ 또는 $\gamma 3$)로 heterotrimeric complex를 이루고 있다[3,7](Fig. 2). 각 subunit의 조직 내 분포와 발현 정도의 차이는 다음과 같다. Catalytic $\alpha 1$ subunit은 신장, 폐와 지방 조직에 많이 분포되어 있는 반면에 catalytic $\alpha 2$ subunit은 주로 심장, 근육과 간에 분포되어 있다. Regulatory $\beta 1$ subunit은 주로 간에 분포되어 있으며 $\beta 2$ subunit의 경우에는 근육에 분포되어 있다. Regulatory $\gamma 1$ 과 $\gamma 2$ subunits는 조직 내 광범위하게 분포하고 있지만, $\gamma 3$ 는 근육에서 특이적으로 높게 분포하고 있는 것으로 보인다. α subunit의 N-terminal 부분에는 catalytic domain을 포함하고 있으며, 이 domain에는 upstream kinases에 의한 AMPK의 인산화 및 활성화 중요한 역할을 하는 threonine residue Thr172가 존재한다[8,9]. α subunit의 C-terminal 부

분에는 β 와 γ subunits과의 결합에 필요한 자리가 포함되어 있다[10]. β subunit의 C-terminal 부분은 functional $\alpha\beta\gamma$ complex를 형성하는데 중요한 역할을 하며, β subunit의 중심 부분에는 그 기능이 확실하게 밝혀지지 않은 glycogen-binding domain (GBD)이 포함되어 있다[11,12]. γ subunit은 다양한 N-terminal regions과 AMP 또는 ATP 결합에 필요한 4개의 cystathionine- β synthase (CBS) domains로 이루어져 있다[13]. AMPK의 heterotrimeric complex를 구성하는 3개의 다른 subunits의 다양한 조합과 조직 특이적 발현으로 AMPK에 의한 특정 대사과정제어가 이루어질 수 있을 것으로 여겨진다.

2. AMPK의 조절

AMPK의 활성화 조절은 AMP에 의한 allosteric activation과 upstream kinases에 의해 AMPK의 catalytic subunit에 위치한 threonine residue Thr172의 인산화 과정이 포함된다(Fig. 3). 두 기전의 연합 효과는 1,000배 이상의 kinase 활성화를 가능하게 함으로써 세포 내 에너지 상태의 작은 변화에도 매우 민감하게 반응한다[14]. AMP에 의한 활성화 작용은 ATP와 길항작용을 이루고 있기 때문에 AMPK의 활성화는 오직 AMP 변화에 의해서만 결정되는 것이 아니라 AMP/ATP ratio에 의해 결정된다[15]. 또한 AMPK의 활성화를 증가시키는 또 다른 기전으로 adenylate kinase가 존재

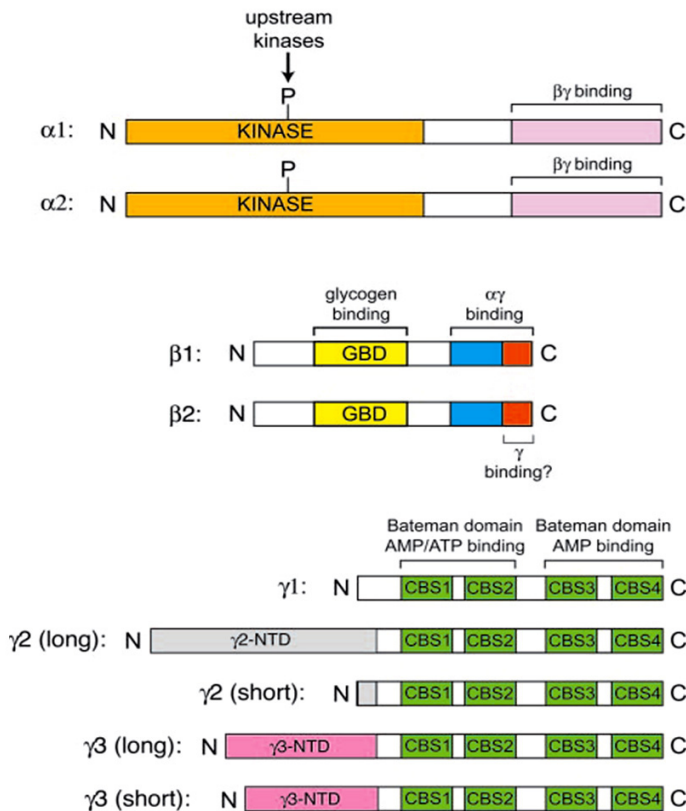


Fig. 2. Subunit structures of AMPK. Figure from Towler et al., 2007[3].

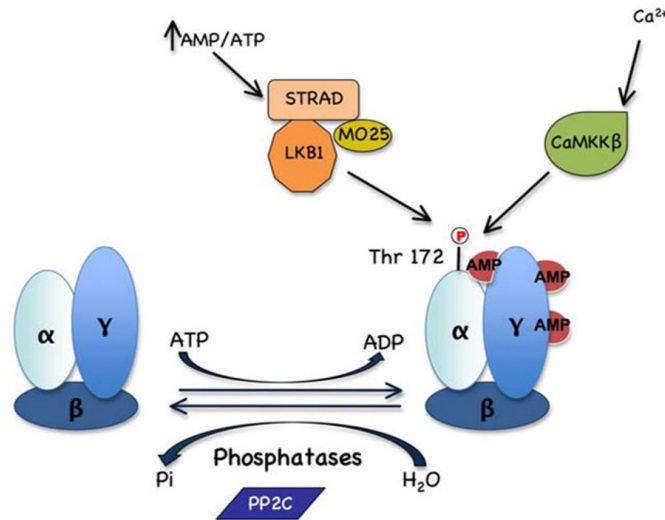


Fig. 3. Regulation of AMPK activation. Figure from Viollet et al., 2009[58].

할 수 있기 때문에 AMP와 ATP는 세포 내에서 상호보완적으로 다양한 작용을 한다[16]. AMPK의 regulatory γ subunit에 AMP의 결합으로 allosteric activation이 촉진되고, upstream kinases에 의해 threonine residue Thr172에 인산화가 이루어지며, 이는 protein phosphatases (PP-2C)에 의한 탈인산화 과정을 억제시킨다[17,18]. LKB1[19,20]과 Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase kinase β (CaMKK β)[21,22]는 AMPK의 upstream kinases로 작용한다. 중앙 억제인자로 알려진 LKB1은 두 개의 accessory subunits (STRAD와 MO25)와 복합체를 이루고 있다. 이 복합체는 AMP-dependent pathway를 통해 지속적인 활성을 나타내며 AMPK의 활성화를 촉진시킨다. 최근 연구에 따르면, 간에서는 LKB1의 아세틸화가 LKB1의 세포 내 위치와 활성에 관여하는 것으로 나타났다[23]. *In vivo* 실험에서 starved-refed rats와 비교해 48 hr starved rats의 간에서 LKB1의 아세틸화가 60% 정도 감소되었고, 이와 같은 변화는 LKB1과 AMPK의 활성 증가와 관련이 있는 것으로 보고되었다. 이로써 NAD(+) 의존적 탈아세틸화 효소인 SIRT1의 작용에 의한 LKB1의 탈아세틸화와 LKB1에 의한 AMPK의 활성화 기전 사이의 연관 가능성을 보여주고 있다[23]. AMP level의 변화와 상관없이 AMPK의 활성화와 관련된 또 다른 경로로서 세포질 내의 Ca^{2+} level의 변화에 반응하는 CaMKK β 가 있다.

3. AMPK의 역할

1) 당대사 항상성에서 AMPK의 역할

당대사 항상성은 간에서의 당 생성과 말초조직(근육, 지방 등)에서의 당 흡수 사이의 균형을 통하여 유지하게 된다. 당뇨병 환자에서의 간 혈당 증가는 공복 시 고혈당을 일으키는 주요 원인이 된다[2]. AICAR 또는 metformin과 같은

AMPK의 활성화 약물들이 간에서 당 생성을 억제시키는 것으로 보고됨으로써 간에서의 당 생성 조절에 AMPK의 역할이 중요하다는 것을 입증하였다[24,25]. 최근 연구에 따르면, metformin의 혈당 감소 효과를 조절하는 기전으로 LKB1/AMPK의 활성화 조절을 이용하는 것이 밝혀졌다[26]. 또한, AMPK $\alpha 2$ catalytic subunit의 constitutively active form (AMPK $\alpha 2$ -CA)을 이용한 생쥐실험을 통하여 간 내의 당 생성 억제를 통해 정상 마우스뿐만 아니라 당뇨병 모델의 마우스에서도 혈당저하가 나타남이 증명되었다[27]. AICAR를 처리하거나 AMPK-CA를 발현하는 간 세포에서 gluconeogenesis에 관여하는 PEPCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase) 또는 G6Pase (glucose-6-phosphatase) 등의 유전자 발현이 감소되고, 이에 따라 당 생성 억제를 일으킨다고 보고되었다[27,28]. AMPK에 의한 당 생성 억제 기전으로 CREB의 활성을 조절하는 coactivator인 TORC2 (transducer of regulated CREB activity 2)의 인산화 조절을 이용하는 것이 밝혀졌다[29]. TORC2는 CREB를 통한 직접적 PGC-1 α 전사 발현 조절을 매개하고 gluconeogenic targets인 PEPCK와 G6Pase의 전사조절도 매개하는 것으로 보고되었다. TORC2는 세포 내 에너지 상태의 변화에 반응하여 움직이는 다양한 신호 전달 경로에 의해 조절된다(Fig. 4). 당대사 항상성 유지에 있어서 간 내의 AMPK 활성화와 지방세포에서 분비되는 각종 호르몬 사이의 생리적 연관성이 있는 것으로 나타났다. Adipokine의 일종인 resistin이 결핍된 마우스에서 간 내의 당 생성 억제와 혈당량 감소는 부분적으로 간에서의 AMPK의 활성화와 gluconeogenic enzymes의 발현량 감소와 관련되어 있는 것으로 보고되었다[30]. Adiponectin의 주입은 혈당량과 gluconeogenic enzymes의 발현량 모두 감소시키는 것으로 보고되었다. 이와 같은 변화는 AMPK가 간에서의 당 대사에 중요한 역할

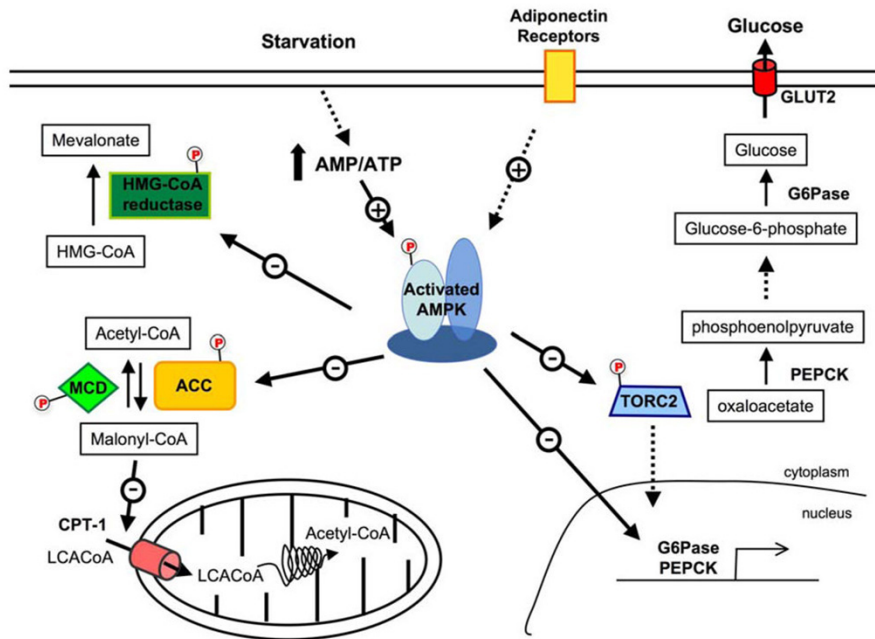


Fig. 4. AMPK and the regulation of hepatic metabolism. Figure from Viollet et al., 2009[58].

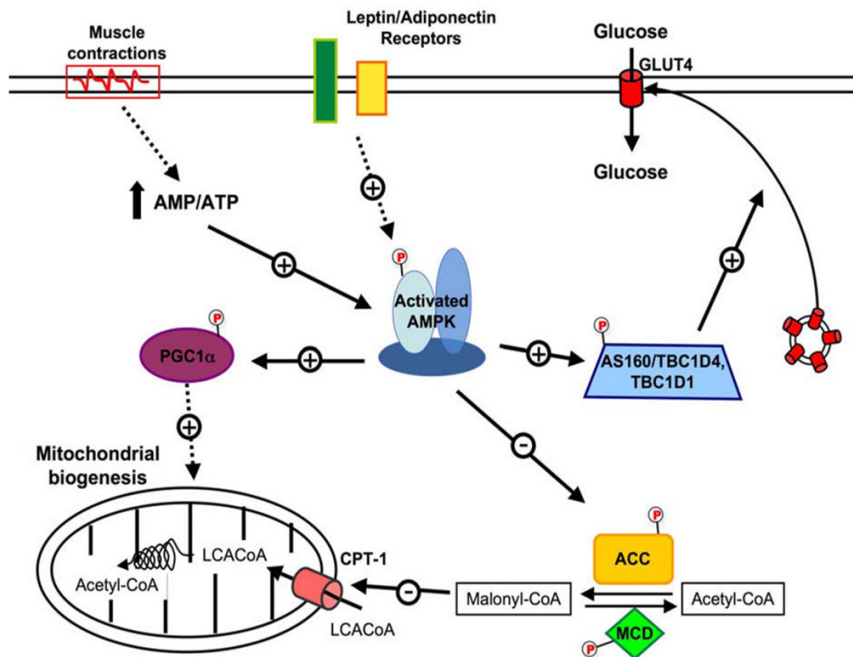


Fig. 5. AMPK and the regulation of skeletal muscle metabolism. Figure from Viollet et al., 2009[58].

을 수행함을 보여준다[31].

근육은 생체 내의 당 흡수를 담당하는 기관이다. 인슐린은 세포 표면으로 당 수송체인 GLUT4의 이동을 촉진시켜 근육 내로 당 유입을 증가시킨다(Fig. 5). 운동에 의한 근수축이나 AICAR와 같은 약물에 의한 AMPK 활성화는 근육의 당 유입을 촉진시키며 인슐린에 의한 당 흡수 증가 기전과는 다른 것으로 보인다. 정상군과 당뇨병에서 AICAR의

처리하는 근육 내 GLUT4의 양을 증가시키고 이러한 기전으로 당 유입을 효과적으로 증가시킨다[32]. 근육 내 AMPK의 활성화는 제2형 당뇨병 환자에서 보이는 인슐린 신호전달의 저하를 개선시킴으로써 당 유입을 촉진시킬 가능성이 있다. AMPK를 활성화시키는 많은 상위 신호들이 비교적 잘 알려져 있지만[15], 근육의 당 수송에 관여하는 AMPK의 하위 신호전달 기전은 불분명한 상태이다. Akt의 하위

표적인 160kDa의 Akt 기질 (AS160/TBC1D4)은 인슐린 자극에 의한 당 유입을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 최근에 보고되었다. 근육의 당 수송 조절을 매개하는 AMPK의 또 다른 하위 표적으로 TBC1D1이 연관될 가능성이 있다[33]. 운동이나 AICAR에 의한 AMPK의 활성화는 인슐린과 유사하게 근육에서 AS160/TBC1D4 인산화됨을 확인하였다[34]. 이러한 결과를 통해, AMPK의 활성화에 따른 당 유입의 증가는 AS160/TBC1D4에 의해 매개됨을 알 수 있다. 일부 사이토카인은 AMPK의 활성화를 통해 근육에서의 당 수송 촉진을 매개한다. Adipokine의 일종인 leptin이 말초 조직에서 당 유입을 증가시키는 것으로 최근에 보고되었다[35,36]. Leptin이 선택적으로 근육 내 AMPK α 2의 인산화 및 활성화를 촉진시키는 것으로 밝혀짐으로써, leptin에 의해 매개되는 당 수송 촉진이 AMPK에 의해 조절됨이 확인되었다[37]. 또한 adiponectin도 정상군과 비만군의 근육에서 당 수송을 증가시키는 것으로 보고되었다[38]. 이러한 결과들을 종합해 볼 때 근육에서의 AMPK는 당 수송을 조절함으로써 당 대사 항상성에 중요한 역할을 담당할 것으로 보인다. 따라서, AMPK는 당 대사 조절과정에 필수적인 매개인자이며, AMPK의 신호전달경로는 대사 질환 치료에 중요한 표적이 된다.

2) 지방대사 조절에서 AMPK의 역할

AMPK는 지방산의 합성과 분해를 매개함으로써 간 지방대사의 조절에 중요한 역할을 담당한다(Fig. 4). AMPK의 활성화는 ATP를 소비하는 과정(예를 들어, 지방산 합성과 콜레스테롤 합성)에 필요한 효소인 acetyl-CoA carboxylase (ACC)와 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase)를 인산화 및 불활성화시킨다. AMPK는 fatty acid synthase, pyruvate kinase 그리고 ACC와 같은 지질 합성에 관계된 유전자 발현을 억제시킨다[39,40]. Malonyl-CoA를 합성하는 ACC 효소는 지방산 합성에 중요한 전구체이며 미토콘드리아의 지방산 산화에 대한 잠재적인 억제자로 작용한다. AMPK에 의한 ACC 불활성화는 malonyl-CoA의 농도 저하를 초래하고 carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1)의 활성도를 증가시켜 지방산 산화를 증가시킨다[41]. 정상군과 비만군에서의 AICAR 또는 metformin 처리, 간에서의 AMPK α 2-CA 과발현은 지질 산화의 증가 지표인 β -hydroxybutyrate level을 증가시키고 혈중 중성지방 수치를 감소시킨다[24,25,27]. 그러나 간 특이적 AMPK α 2 제거는 혈중 중성지방 수치를 증가시키고 간에서의 지질 합성을 증가시키는 것으로 보고되었다[42]. 이는 AMPK가 지방 합성의 감소와 지방 분해의 증가를 통해 간 지방대사의 균형을 이루고 있음을 보여준다. 또한, AMPK는 근육에서의 지방산 산화 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Fig. 5). 설치류의 골격근에서, AICAR 처리에 의한

AMPK의 활성화는 palmitate 산화를 증가시킨다[43]. 에너지 항상성에 핵심적인 역할을 하는 adipokine의 일종인 leptin은 AMPK를 활성화시킴으로써 근육에서의 지방산 산화를 증가시키는 것으로 보고되었다[37]. 근육 내 AMPK의 활성화는 PGC-1 α 발현을 통해 미토콘드리아 관련 유전자들의 발현을 증가시키는 것으로 보고되었다[44]. AMPK가 세포 내 NAD(+)의 함량을 증가시키고 이를 통해 NAD(+)의 존적 탈아세틸화 효소인 SIRT1이 작용함으로써 PGC-1 α 의 탈아세틸화 및 활성화가 이루어지는 것으로 보고되었다[45]. 비만군과 제2형 당뇨병에서 비롯되는 인슐린 저항성과 대사의 경직성은 근육 내 미토콘드리아의 기능 장애와 관련이 있는 것으로 보고되었다[46]. 이는 AMPK에 의한 미토콘드리아의 기능 향상이 인슐린 저항성과 대사의 경직성을 극복시켜 줄 수 있음을 보여주고 있다.

3) 췌장 β -세포에서 AMPK의 역할

제2형 당뇨병의 병인은 두 가지 원인, 즉 인슐린 분비장애와 인슐린 저항성의 복합 장애라고 알려져 있다[47]. 만성적인 고혈당 상태는 췌장 β -세포의 대사에 해로운 영향을 미치며 세포 내 지질 독성을 유발하는데 관여하는 fatty acyl-CoA 함량을 증가시키는 것으로 보고되었다[48]. 이는 췌장 β -세포에서의 당 자극에 의한 인슐린 분비 저하와 세포 자연사를 일으키게 된다. 최근 연구에 따르면, AMPK에 의해 조절되는 신호전달체계는 췌장 β -세포에서의 당지질독성과 제2형 당뇨병의 병인에 있어 중요한 역할을 할 것이라고 보고하였다. 췌장 β -세포에 metformin, TZDs 및 AICAR 처리는 지방산의 β -산화를 증가시키고 당지질독성에 의해 유발된 인슐린 분비 장애를 막는다[49,50]. AICAR 농도에 의존적으로 췌장 β -세포의 기능을 개선시키며 만성적인 고혈당 상태에 의해 유발되는 세포자연사를 감소시킬 수 있는 것으로 보고되었다. 하지만, 췌장 β -세포사멸 조절 기전에 있어 AMPK의 역할은 아직 완전히 규명되지 않은 상태이다[51,52].

췌장 β -세포에서 생리적 농도 범위 이상으로 당 농도를 증가시켰을 경우 AMPK의 활성이 급격하게 감소하는 것으로 보고되었다[53,54]. 이는 AMPK가 세포 내 에너지 상태의 센서로 작용하여 인슐린 분비 조절에 중요한 역할을 하고 있음을 나타낸다. 췌장 β -세포주나 설치류 및 인간의 췌장 소도에 AICAR, metformin, TZDs, 그리고 berberine을 처리하거나 AMPK α 1-CA 과발현으로 유도된 AMPK의 활성화는 당 자극에 의한 인슐린 분비를 감소시키는 것으로 보고되었다[55-57]. 반면에, AMPK의 dominant-negative form을 과발현시켰을 경우 낮은 당 농도에서 인슐린 분비를 촉진시킨다고 보고되었다[53,54]. 이러한 결과들은 AMPK의 활성화가 당대사의 항상성 유지를 위해 인슐린 분비를 억제하고 있는 것으로 나타난다. 따라서, 제2형 당뇨병에서

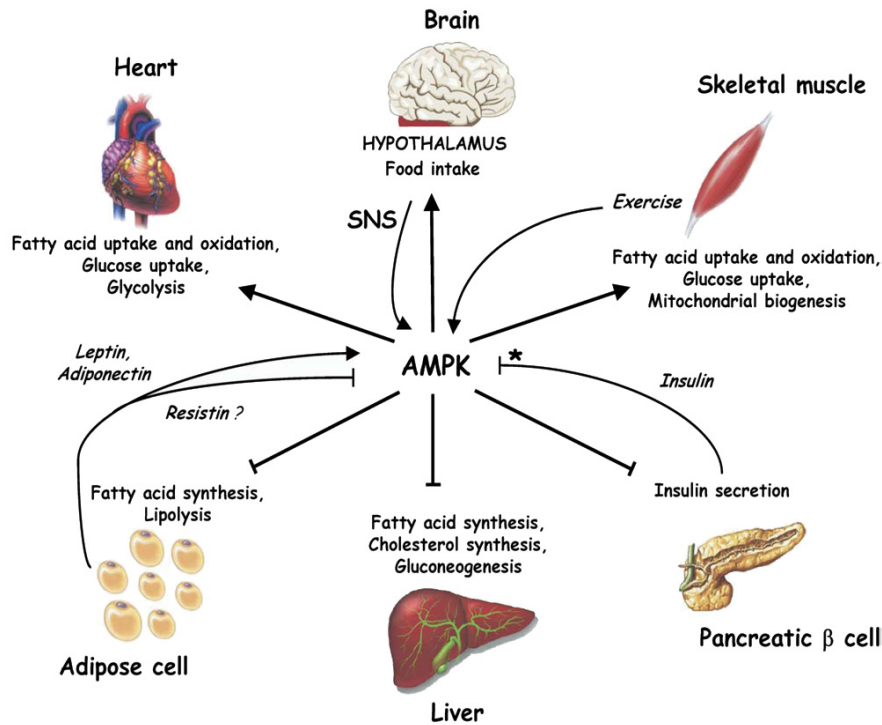


Fig. 6. Roles of AMPK in the control of whole-body energy homeostasis. Figure from Kahn et al., 2005[6].

나타나는 당 자극에 의한 인슐린 분비 저하를 개선시키기 위해 AMPK를 활성화시키기보다는 억제시키는 것이 보다 효과적이라고 볼 수 있다.

결론

당 및 지질 대사 조절의 이상 등이 여러 대사성 질환의 발생에 공통적으로 관여하는 기전으로 알려져 있다. 최근 여러 연구들은 에너지 대사의 조절에 중추적인 역할을 담당하는 AMPK[6](Fig. 6)와 대사성 질환과의 연관성에 대해 보고하고 있으며 이러한 연구 결과들은 AMPK의 활성화를 조절하는 것이 비만, 제 2형 당뇨병, 고지혈증 그리고 심혈관계 질환 등과 같은 대사성 질환의 발생을 예방하고 치료를 하는데 중요한 역할을 할 수 있을 것임을 제시하고 있다. 이에 따라 앞으로 AMPK를 표적으로 하는 약물 개발 연구가 활발해질 것으로 전망하고 있다.

참고 문헌

1. Wing RR, Goldstein MG, Acton KJ, Birch LL, Jakicic JM, Sallis JF Jr, Smith-West D, Jeffery RW, Surwit RS: Behavioral science research in diabetes: lifestyle changes related to obesity, eating behavior, and physical activity. *Diabetes Care* 24:117-123, 2001
2. Saltiel AR, Kahn CR: Insulin signalling and the

regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414:799-806, 2001

3. Towler MC, Hardie DG: AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res* 100:328-341, 2007
4. Hardie DG: AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:774-785, 2007
5. Zhang BB, Zhou G, Li C: AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab* 9:407-416, 2009
6. Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG: AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab* 1:15-25, 2005
7. Carling D: The AMP-activated protein kinase cascade--a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci* 29:18-24, 2004
8. Hawley SA, Davison M, Woods A, Davies SP, Beri RK, Carling D, Hardie DG: Characterization of the AMP-activated protein kinase kinase from rat liver and identification of threonine 172 as the major site at which it phosphorylates AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 271:27879-27887, 1996
9. Stein SC, Woods A, Jones NA, Davison MD, Carling

- D: The regulation of AMP-activated protein kinase by phosphorylation. *Biochem J* 345:437-443, 2000
10. Crute BE, Seefeld K, Gamble J, Kemp BE, Witters LA: Functional domains of the alpha1 catalytic subunit of the AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 273:35347-35354, 1998
 11. Woods A, Cheung PC, Smith FC, Davison MD, Scott J, Beri RK, Carling D: Characterization of AMP-activated protein kinase beta and gamma subunits. Assembly of the heterotrimeric complex in vitro. *J Biol Chem* 271:10282-10290, 1996
 12. Hudson ER, Pan DA, James J, Lucocq JM, Hawley SA, Green KA, Baba O, Terashima T, Hardie DG: A novel domain in AMP-activated protein kinase causes glycogen storage bodies similar to those seen in hereditary cardiac arrhythmias. *Curr Biol* 13:861-866, 2003
 13. Kemp BE: Bateman domains and adenosine derivatives form a binding contract. *J Clin Invest* 113:182-184, 2004
 14. Suter M, Riek U, Tuerk R, Schlattner U, Wallimann T, Neumann D: Dissecting the role of 5'-AMP for allosteric stimulation, activation, and deactivation of AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 281:32207-32216, 2006
 15. Hardie DG: The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream. *J Cell Sci* 117:5479-5487, 2004
 16. Hancock CR, Janssen E, Terjung RL: Contraction-mediated phosphorylation of AMPK is lower in skeletal muscle of adenylate kinase-deficient mice. *J Appl Physiol* 100:406-413, 2006
 17. Riek U, Scholz R, Konarev P, Rufer A, Suter M, Nazabal A, Ringler P, Chami M, Müller SA, Neumann D, Forstner M, Hennig M, Zenobi R, Engel A, Svergun D, Schlattner U, Wallimann T: Structural properties of AMP-activated protein kinase: dimerization, molecular shape, and changes upon ligand binding. *J Biol Chem* 283:18331-18343, 2008
 18. Sanders MJ, Grondin PO, Hegarty BD, Snowden MA, Carling D: Investigating the mechanism for AMP activation of the AMP-activated protein kinase cascade. *Biochem J* 403:139-148, 2007
 19. Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, Mustard KJ, Udd L, Mäkelä TP, Alessi DR, Hardie DG: 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* 2:28, 2003
 20. Woods A, Johnstone SR, Dickerson K, Leiper FC, Fryer LG, Neumann D, Schlattner U, Wallimann T, Carlson M, Carling D: LKB1 is the upstream kinase in the AMP-activated protein kinase cascade. *Curr Biol* 13:2004-2008, 2003
 21. Hawley SA, Pan DA, Mustard KJ, Ross L, Bain J, Edelman AM, Frenguelli BG, Hardie DG: Calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta is an alternative upstream kinase for AMP-activated protein kinase. *Cell Metab* 2:9-19, 2005
 22. Hurley RL, Anderson KA, Franzone JM, Kemp BE, Means AR, Witters LA: The Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinases are AMP-activated protein kinase kinases. *J Biol Chem* 280:29060-29066, 2005
 23. Lan F, Cacicedo JM, Ruderman N, Ido Y: SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1. Possible role in AMP-activated protein kinase activation. *J Biol Chem* 283:27628-27635, 2008
 24. Bergeron R, Previs SF, Cline GW, Perret P, Russell RR 3rd, Young LH, Shulman GI: Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside infusion on in vivo glucose and lipid metabolism in lean and obese Zucker rats. *Diabetes* 50:1076-1082, 2001
 25. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, Wu M, Ventre J, Doebber T, Fujii N, Musi N, Hirshman MF, Goodyear LJ, Moller DE: Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 108:1167-1174, 2001
 26. Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo SH, Bardeesy N, Depinho RA, Montminy M, Cantley LC: The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science* 310:1642-1646, 2005
 27. Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, Saintillan Y, Grondin P, Kahn A, Thorens B, Vaulont S, Viollet B: Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver. *Diabetes* 54:1331-1339, 2005

28. Lochhead PA, Salt IP, Walker KS, Hardie DG, Sutherland C: 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCK and glucose-6-phosphatase. *Diabetes* 49:896-903, 2000
29. Koo SH, Flechner L, Qi L, Zhang X, Sreeton RA, Jeffries S, Hedrick S, Xu W, Boussouar F, Brindle P, Takemori H, Montminy M: The CREB coactivator TORC2 is a key regulator of fasting glucose metabolism. *Nature* 437:1109-1111, 2005
30. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, Wang J, Rajala MW, Pocai A, Scherer PE, Stepan CM, Ahima RS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA: Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 303:1195-1198, 2004
31. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T: Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 8:1288-1295, 2002
32. Koistinen HA, Galuska D, Chibalin AV, Yang J, Zierath JR, Holman GD, Wallberg-Henriksson H: 5-amino-imidazole carboxamide riboside increases glucose transport and cell-surface GLUT4 content in skeletal muscle from subjects with type 2 diabetes. *Diabetes* 52:1066-1072, 2003
33. Sakamoto K, Holman GD: Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295:E29-E37, 2008
34. Treebak JT, Birk JB, Rose AJ, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF: AS160 phosphorylation is associated with activation of α 2 β 2 γ 1- but not α 2 β 2 γ 3-AMPK trimeric complex in skeletal muscle during exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292:E715-E722, 2007
35. Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW, DePaoli AM, Taylor SI, Gorden P, Shulman GI: Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest* 109:1345-1350, 2002
36. Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ: Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature* 389:374-377, 1997
37. Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Müller C, Carling D, Kahn BB: Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 415:339-343, 2002
38. Bruce CR, Mertz VA, Heigenhauser GJ, Dyck DJ: The stimulatory effect of globular adiponectin on insulin-stimulated glucose uptake and fatty acid oxidation is impaired in skeletal muscle from obese subjects. *Diabetes* 54:3154-3160, 2005
39. Woods A, Azzout-Marniche D, Foretz M, Stein SC, Lemarchand P, Ferré P, Foufelle F, Carling D: Characterization of the role of AMP-activated protein kinase in the regulation of glucose-activated gene expression using constitutively active and dominant negative forms of the kinase. *Mol Cell Biol* 20:6704-6711, 2000
40. Foretz M, Carling D, Guichard C, Ferré P, Foufelle F: AMP-activated protein kinase inhibits the glucose-activated expression of fatty acid synthase gene in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 273:14767-14771, 1998
41. Assifi MM, Suchankova G, Constant S, Prentki M, Saha AK, Ruderman NB: AMP-activated protein kinase and coordination of hepatic fatty acid metabolism of starved/carbohydrate-refed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289:E794-E800, 2005
42. Andreelli F, Foretz M, Knauf C, Cani PD, Perrin C, Iglesias MA, Pillot B, Bado A, Tronche F, Mithieux G, Vaulont S, Burcelin R, Viollet B: Liver adenosine monophosphate-activated kinase- α 2 catalytic subunit is a key target for the control of hepatic glucose production by adiponectin and leptin but not insulin. *Endocrinology* 147:2432-2441, 2006
43. Merrill GF, Kurth EJ, Hardie DG, Winder WW: AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. *Am J Physiol* 273:E1107-E1112, 1997
44. Jäger S, Handschin C, St-Pierre J, Spiegelman BM: AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:12017-12022, 2007
45. Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Noriega L, Milne JC, Elliott PJ, Puigserver P, Auwerx J: AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. *Nature* 458:1056-1060, 2009

46. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB: Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 51:2944-2950, 2002
47. Kahn SE: The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia* 46:3-19, 2003
48. Prentki M, Joly E, El-Assaad W, Roduit R: Malonyl-CoA signaling, lipid partitioning, and glucolipototoxicity: role in beta-cell adaptation and failure in the etiology of diabetes. *Diabetes* 51:S405-S413, 2002
49. Lupi R, Del Guerra S, Fierabracci V, Marselli L, Novelli M, Patanè G, Boggi U, Mosca F, Piro S, Del Prato S, Marchetti P: Lipotoxicity in human pancreatic islets and the protective effect of metformin. *Diabetes* 51:S134-S137, 2002
50. Higa M, Zhou YT, Ravazzola M, Baetens D, Orci L, Unger RH: Troglitazone prevents mitochondrial alterations, beta cell destruction, and diabetes in obese prediabetic rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:11513-11518, 1999
51. Kefas BA, Heimberg H, Vaulont S, Meisse D, Hue L, Pipeleers D, Van de Casteele M: AICA-riboside induces apoptosis of pancreatic beta cells through stimulation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia* 46:250-254, 2003
52. Kim WH, Lee JW, Suh YH, Lee HJ, Lee SH, Oh YK, Gao B, Jung MH: AICAR potentiates ROS production induced by chronic high glucose: roles of AMPK in pancreatic beta-cell apoptosis. *Cell Signal* 19:791-805, 2007
53. Tsuboi T, da Silva Xavier G, Leclerc I, Rutter GA: 5'-AMP-activated protein kinase controls insulin-containing secretory vesicle dynamics. *J Biol Chem* 278:52042-52051, 2003
54. da Silva Xavier G, Leclerc I, Varadi A, Tsuboi T, Moule SK, Rutter GA: Role for AMP-activated protein kinase in glucose-stimulated insulin secretion and preproinsulin gene expression. *Biochem J* 371:761-774, 2003
55. Leclerc I, Woltersdorf WW, da Silva Xavier G, Rowe RL, Cross SE, Korbutt GS, Rajotte RV, Smith R, Rutter GA: Metformin, but not leptin, regulates AMP-activated protein kinase in pancreatic islets: impact on glucose-stimulated insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E1023-E1031, 2004
56. Wang X, Zhou L, Shao L, Qian L, Fu X, Li G, Luo T, Gu Y, Li F, Li J, Zheng S, Luo M: Troglitazone acutely activates AMP-activated protein kinase and inhibits insulin secretion from beta cells. *Life Sci* 81:160-165, 2007
57. Zhou L, Wang X, Shao L, Yang Y, Shang W, Yuan G, Jiang B, Li F, Tang J, Jing H, Chen M: Berberine acutely inhibits insulin secretion from beta-cells through 3',5'-cyclic adenosine 5'-monophosphate signaling pathway. *Endocrinology* 149:4510-4518, 2008
58. Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, Hebrard S, Amouyal C, Mounier R, Foretz M, Andreelli F: Targeting the AMPK pathway for the treatment of Type 2 diabetes. *Front Biosci* 14:3380-3400, 2009