

综述

腺苷酸活化蛋白激酶：炎症调控新靶点

姚峰^{1,2}, 汲广岩¹, 张力^{2,*}

重庆医科大学¹临床学院; ²病理生理学教研室, 重庆 400016

摘要: 腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是参与调节糖、脂肪和蛋白质的代谢, 维持细胞能量稳态的关键丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。新近研究表明: AMPK可通过磷酸化SIRT1、PGC-1 α 、p53和FoxO3a等下调核因子- κ B的活性、抑制炎症相关基因的表达并减轻组织炎症损伤; 此外, 临床常用的降糖药二甲双胍也可通过激活AMPK而减轻炎症损伤。因而, AMPK将成为极具前景的抗炎药物开发新靶点。本文就AMPK的炎症调控效应及其分子机制作一综述。

关键词: 腺苷酸活化蛋白激酶; 炎症; 核因子- κ B; 二甲双胍

中图分类号: R364.5; Q55

AMPK: a novel target controlling inflammation

YAO Feng^{1,2}, JI Guang-Yan¹, ZHANG Li^{2,*}

¹College of Clinical Medicine; ²Department of Pathophysiology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: The AMP-activated protein kinase (AMPK) is a pivotal serine/threonine kinase participating in the regulation of glucose, lipid as well as protein metabolism and maintenance of energy homeostasis. Recent studies demonstrated that AMPK can also inhibit nuclear factor- κ B, suppress the expression of inflammatory genes and attenuate inflammatory injury through phosphorylating its downstream targets including SIRT1, PGC-1 α , p53 and FoxO3a. In addition, the widely used antidiabetic metformin also exerts its anti-inflammatory effects through activating AMPK. Therefore, AMPK is emerging as a promising novel target for the development of anti-inflammatory drugs. This review summarized the anti-inflammatory effects of AMPK and the underlying molecular mechanisms.

Key words: AMP-activated protein kinase; inflammation; nuclear factor- κ B; metformin

炎症是机体抵抗病原入侵、修复组织损伤的重要防御反应, 但过度、失控的炎症反应也可造成自身组织损伤, 成为多种疾病发生、发展的基础性病理机制。炎症的发生、发展是由众多受体、信号转导通路及转录因子共同参与的复杂分子反应, 这一过程存在精细的调控机制来维持炎症协调有序地发生、发展^[1]。近年来, 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 对炎症反应的调控作用受到关注。为此, 本文总结了近年来关于 AMPK

的体内外抗炎效应及其相关分子机制研究的新进展, 分析了 AMPK 在炎症发生发展中的重要作用, 并探讨了 AMPK 作为炎症干预新靶点的潜在价值。

1 AMPK的结构及其活性调节

AMPK 在真核细胞生物中广泛存在, 属于代谢敏感的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 因在调节糖、脂肪、蛋白质的代谢中发挥重要作用而被喻为“细胞能量监测器”^[2]。AMPK 是由 α 、 β 、 γ 三个亚基组

Received 2011-11-05 Accepted 2012-01-17

This review was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30900651) and the Education Commission of Chongqing Municipality, China (No. KJ090304)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68485478; E-mail: zhangli@cqmu.edu.cn

成的三聚体。 α 亚基分子量为 63 kDa, 有 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 两种不同的亚型, 为催化反应亚单位; β 亚基分子量为 30 kDa, 有 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 两种不同的亚型, 为调节亚基; γ 亚基则有 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 三种亚型, 不同亚型分子量不同, 在 38~63 kDa 之间, 为调节亚基。以上这些亚型分别由不同的基因编码, 不同的亚型表达于不同细胞或同一细胞的不同亚细胞结构^[2]。

α 亚基 N 端含有一个典型的丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶的催化区域, C 端含有结合 β 和 γ 亚基的位点。 α 亚基中的数个位点 (Thr¹⁷²、Thr²⁵⁸、Ser⁴⁸⁵ 等) 均可被磷酸化, 其中 Thr¹⁷² 的磷酸化是调节 AMPK 活性的关键方式^[3]。 β 亚基为锚定亚单位, 其 N 端豆蔻酰化位点 (N-terminal myristoylation site) 可使 AMPK 固定在细胞膜上, 中间为一糖原连接段, C 端为 α 、 γ 结合段, 可使 AMPK 形成一个稳定的三聚体。 γ 亚基有 4 个串行重复的胱硫醚- β 合成酶区域 (cystathionine- β -synthase sequence motifs), 它们以 2 个一组的方式组成 2 个功能性 Bateman 结构域 (Bateman domains), 可以与 AMP 或者 ATP 结合^[2, 3]。

目前的研究显示 AMPK 可通过以下 4 种方式被激活: (1) AMP 与 γ 亚基结合使 AMPK 变构而被激活, 而 AMP 与 AMPK 的结合也使得后者不易被磷酸酶作用而失活; (2) 在骨骼肌、肝脏和心脏等组织中, 当 AMP/ATP 升高时, 肿瘤抑制激酶 LKB1 与 Ste-20-related adaptor protein (STRADA/ β) 和 mouse protein 25 (MO25 α / β) 形成三元复合体后磷酸化 AMPK α 上的 Thr¹⁷², 从而使 AMPK 激活; (3) 当神经细胞、内皮细胞、T 淋巴细胞中 Ca²⁺ 浓度升高时, CaMKK β 可磷酸化 AMPK α 上 Thr¹⁷² 而使 AMPK 激活; (4) 最近又在酵母细胞中发现 transforming growth factor β -activated kinase 1 (TAK1) 也可通过磷酸化 Thr¹⁷² 而激活 AMPK^[3]。

2 AMPK 的代谢调节效应

AMPK 参与调节糖、脂肪、蛋白质等多种代谢过程, 其活性主要受到 AMP/ATP 比值的调控。在生理条件下, 真核细胞内 AMP 的含量极低, AMP/ATP 约为 1/100, AMPK 处于无活性状态; 当细胞处于缺血、缺氧和能量消耗等应激状态时, AMP/ATP 比值升高, AMPK 被激活, 通过对下游靶蛋白的磷酸化, 抑制蛋白质、脂肪合成等消耗 ATP 的代谢途径, 并增强糖酵解、脂肪酸氧化等产能代谢反应, 维持细胞内 ATP 含量, 因此 AMPK 又被称为“细

胞能量监测器”^[3]。

3 AMPK 的炎症调节效应

近年来的研究还显示 AMPK 激活后可显著减轻炎症介质的表达及组织的炎症损伤。例如, 在大鼠腹腔巨噬细胞和小胶质细胞上, AMPK 激活剂 5-amino-4-imidazole carboxamide riboside (AICAR) 可显著降低脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 iNOS 的表达, 这些效应伴有核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的活性降低; 而转染 AMPK 反义寡核苷酸或失活突变的 AMPK 则可增强 LPS 诱导的炎症基因表达, 并消除 AICAR 的抗炎效应^[4]。AMPK 激活剂也可降低 TNF- α 或 IL-1 β 激活的血管内皮细胞中 NF- κ B 的活性及多种黏附分子的表达, 这一效应可被针对 AMPK 的 siRNA 消除^[5]。在巨噬细胞上, 转染失活突变的 AMPK 或其 siRNA 可明显增强 LPS 诱导的 TNF- α 及 IL-6 表达, 而转染激活型 AMPK 则可显著抑制 LPS 诱导的 TNF- α 及 IL-6 表达^[6]。

动物实验也证实, AMPK 激活剂可显著降低 LPS 暴露小鼠血清中细胞因子水平及脑组织中炎症相关基因表达水平^[4], 明显减弱缺血/再灌注小肠中白细胞与血管内皮细胞的黏附^[7]; AMPK 激活剂也可有效减轻 LPS 诱导的中性粒细胞在急性肺损伤小鼠肺组织中的聚集, 减少肺间质水肿, 降低肺泡灌洗液中的 TNF- α 和 IL-6 的浓度^[8]。在三硝基苯磺酸 (2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS) 诱导的肠炎模型中, AICAR 可明显减轻结肠组织中炎症细胞浸润, 减少杯状细胞和隐窝细胞的破坏, 这些保护效应伴有结肠组织中 TNF- α 、INF- γ 和 IL-17 含量的显著降低^[9]。

有趣的是, 临床上广泛应用于治疗 2 型糖尿病的二甲双胍可通过抑制线粒体呼吸链复合物 1 (respiratory chain complex I) 而减少 ATP 的产生从而增加 AMP/ATP 比值^[10]、抑制 AMP 脱氨酶而减少 AMP 的清除等途径而激活 AMPK^[11]。近期研究表明, 二甲双胍激活 AMPK 后对炎症反应也有显著的抑制作用。例如, 二甲双胍可剂量依赖性地抑制 LPS 刺激的小鼠巨噬细胞中细胞因子的表达^[12]; 二甲双胍也可抑制 TNF- α 激活的内皮细胞上黏附分子的表达及 NF- κ B 的激活, 这一效应可被针对 AMPK 的 siRNA 逆转, 说明二甲双胍的抗炎效应依赖于 AMPK^[5]。

4 AMPK调节炎症的机制

如上所述, AMPK 的抗炎效应多伴有对炎症反应的关键转录因子 NF- κ B 的抑制, 但目前的研究并未显示 AMPK 可直接磷酸化 NF- κ B, 一般认为 AMPK 通过磷酸化沉默信息调节因子 1 (silent information regulation 2 homolog 1, SIRT1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α)、p53、FoxO 转录因子 3a (Forkhead box O3a, FoxO3a) 等下游蛋白来间接调节 NF- κ B 的活性及炎症因子的表达。

4.1 AMPK通过SIRT1调节 NF- κ B活性

蛋白质乙酰化修饰是调节炎症相关基因表达的重要方式, SIRT1 是催化蛋白质去乙酰化的关键酶之一^[13]。SIRT1 的去乙酰化作用需要烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 作为辅助因子^[14], 而 AMPK 可促进 NAD⁺ 合成限速酶 Nampt (NAM phosphoribosyl-transferase) 的基因表达和蛋白质的合成。因此 AMPK 可通过促进 Nampt 的表达、升高 NAD⁺ 含量而增强 SIRT1 的去乙酰化酶活性^[15,16]。

SIRT1 可催化 NF- κ B 的去乙酰化反应。NF- κ B 是炎症反应中的最重要的转录因子之一, 其活性受到乙酰化修饰的调节, 例如, NF- κ B p65 亚单位上赖氨酸残基 Lys³¹⁰ 的乙酰化可显著增强 NF- κ B 的转录活性^[13]。因而, AMPK 可通过激活 SIRT1 而下调 NF- κ B 的乙酰化水平, 从而抑制众多炎症相关基因的表达。此外, SIRT1 还可去乙酰化 AMPK 上游激酶 LKB1 并增强其活性, 这将进一步激活 AMPK, 对 AMPK-SIRT1 途径有正反馈放大作用^[17]。

4.2 AMPK通过激活PGC-1 α 抑制炎症反应

PGC-1 α 在线粒体生物合成、肌纤维类型的转化、葡萄糖代谢、脂肪酸氧化等方面发挥重要调节作用, 研究显示 PGC-1 α 基因敲除小鼠肌肉中 IL-6、TNF- α 等炎症因子表达增强, 血液中炎症细胞因子含量也明显增加^[18], 表明 PGC-1 α 对炎症反应有一定的抑制作用。PGC-1 α 调节炎症的机制目前还不十分清楚, 但免疫共沉淀实验显示 PGC-1 α 可与 NF- κ B 的 p65 亚单位相结合^[19]; 内皮细胞中过表达 PGC-1 α 可抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B 激活及 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)、vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) 等黏附分子的表达^[20]; PGC-

1 α 也可与 NF- κ B 的 p50 亚单位相结合并促进抗炎性细胞因子 IL-10 的表达^[21]; 这些资料提示 NF- κ B 可能是 PGC-1 α 抗炎效应的作用靶点。

一系列实验证实 AMPK 可磷酸化并调节 PGC-1 α 的功能活性, 例如, 免疫共沉淀实验显示 AMPK 和 PGC-1 α 可以在细胞中形成复合体; 进一步的质谱分析显示 AMPK 可磷酸化 PGC-1 α 蛋白上的 Thr¹⁷⁷ 和 Ser⁵³⁸^[22]; AMPK 也可通过 SIRT1 催化 PGC-1 α 的去乙酰化并增高 PGC-1 α 的活性^[23], 此外, AMPK 激活后还可增强 PGC-1 α 基因的表达^[22]。由上述结果可见, AMPK 可通过上调 PGC-1 α 的表达及其活性而发挥炎症调节效应。

4.3 AMPK增强p53及FoxO3a活性

p53 是细胞内的主要肿瘤抑制因子, 其活性受磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化等翻译后修饰反应的调控, 其中 AMPK 可以直接磷酸化 p53 上的 Ser¹⁵ 而增强其活性^[24]。对 p53 的研究大多关注于其调控细胞周期、诱导细胞凋亡等效应, 但最近的研究也显示 p53 对炎症也有显著的抑制效应。p53 基因缺失的小鼠中性粒细胞和巨噬细胞对 LPS 的反应性明显增高; 与野生型小鼠比较, p53 基因敲除小鼠中 LPS 诱导的急性肺损伤显著加重, 同时伴有炎症细胞中 NF- κ B 与 DNA 结合力的增强, 提示 p53 可抑制 NF- κ B 介导的炎症反应^[25]。p53 抑制 NF- κ B 的分子机制还不十分清楚, 目前认为 p53 可与 NF- κ B 竞争有限的转录共激活因子 p300 和 CBP, 这可能是 p53 的抗炎机制之一^[26]。

FoxO3a 可能也是 AMPK 发挥抗炎效应的另一作用靶点。FoxO 转录因子是 Forkhead 蛋白大家族的一个亚群, 在人类的 4 个同源基因中包括 FoxO1、FoxO2、FoxO3a 和 FoxO4, 参与调节机体发育、代谢、免疫及肿瘤发生等生理和病理过程^[27]。研究显示, AMPK 可直接磷酸化 FoxO3a 并增强其转录活性^[28], 而 FoxO3a 敲除小鼠中 NF- κ B 活性显著增强, 炎症细胞因子产生明显增多^[29]。因而, AMPK 可能也通过 FoxO3a 调节 NF- κ B 的活性及炎症相关基因的表达。

5 AMPK的临床应用前景

AMPK 是调节能量代谢稳态的关键激酶, 也可通过磷酸化其下游多个靶蛋白而发挥抑制炎症相关转录因子 NF- κ B 活性, 下调炎症相关基因表达, 减轻组织炎症损伤等抗炎保护效应。目前的研究显示,

糖尿病、肥胖等代谢相关性疾病患者体内常伴有持续的轻度炎症状态^[30], 经二甲双胍治疗的糖尿病患者血中炎症因子和C反应蛋白的水平显著降低^[31,32], 提示二甲双胍在降糖的同时也抑制了糖尿病患者体内的异常炎症反应, 这可能是其防治糖尿病并发症的分子基础。除糖尿病外, 二甲双胍还可有效减轻小鼠非酒精性肝炎和免疫性脑脊髓炎^[33,34], 这提示它可能在其它炎症相关性疾病中也有新的应用价值。此外, 人工合成的 AMPK 激活剂及一些天然化合物也可通过 AMPK 发挥抗炎效应, 并减轻炎症损伤^[35,36], 因而, AMPK 将成为极具前景的抗炎药物开发新靶点。

6 总结与展望

综上所述, AMPK 除在能量代谢中扮演重要角色外, 还可通过磷酸化 SIRT1、PGC-1 α 、p53 和 FoxO3a 等下调 NF- κ B 的活性、抑制炎症相关基因的表达, 从而在炎症的发生发展过程中发挥重要调节作用。因此, AMPK 有望成为炎症干预的新靶点, 而通过药物或其它手段激活 AMPK 可望成为炎症相关性疾病预防的新策略。不过, 目前关于 AMPK 与炎症的研究仍有许多不明之处, 例如, AMPK 在炎症反应中通过何种机制被激活? AMPK 的表达及其活性在炎症相关性疾病中是否发生异常? 能量代谢状态可否通过 AMPK 影响炎症的发生发展? AMPK 激活剂的应用是否会降低机体的免疫防御能力? 进一步深入研究 AMPK 在炎症相关性疾病发病中的作用并阐明其分子机制, 不仅有助于揭示炎症相关性疾病发病的新机制, 也将为炎症相关性疾病预防提供更多有效的手段。

参考文献

- 1 Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140(6): 805–820.
- 2 Witczak CA, Sharoff CG, Doodyear LJ. AMP-activated protein kinase in skeletal muscle; from structure and localization to its role as a master regulator of cellular metabolism. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65(23): 3737–3755.
- 3 Sanz P. AMP-activated protein kinase: structure and regulation. *Curr Protein Pept Sci* 2008; 9(5): 478–492.
- 4 Giri S, Nath N, Smith B, Viollet B, Singh AK, Singh I. 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside inhibits proinflammatory response in glial cells: a possible role of AMP-activated protein kinase. *J Neurosci* 2004; 24(2): 479–487.
- 5 Hattori Y, Suzuki K, Hattori S, Kasai K. Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor kappaB activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Hypertension* 2006; 47(6): 1183–1188.
- 6 Sag D, Carling D, Stout RD, Suttles J. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype. *J Immunol* 2008; 181(12): 8633–8641.
- 7 Gaskin FS, Kamada K, Zuidema MY, Jones AW, Rubin LJ, Korthuis RJ. Isoform-selective 5'-AMP-activated protein kinase-dependent preconditioning mechanisms to prevent post-ischemic leukocyte-endothelial cell adhesive interactions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300(4): H1352–H1360.
- 8 Zhao X, Zmijewski JW, Lorne E, Liu G, Park YJ, Tsuruta Y, Abraham E. Activation of AMPK attenuates neutrophil proinflammatory activity and decreases the severity of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295(3): L497–L504.
- 9 Bai A, Ma AG, Yong M, Weiss CR, Ma Y, Guan Q, Bernstein CN, Peng Z. AMPK agonist downregulates innate and adaptive immune responses in TNBS-induced murine acute and relapsing colitis. *Biochem Pharmacol* 2010; 80(11): 1708–1717.
- 10 Hawley SA, Ross FA, Chevzoff C, Green KA, Evans A, Fogarty S, Towler MC, Brown LJ, Ogunbayo OA, Evans AM, Hardie DG. Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation. *Cell Metab* 2010; 11(6): 554–565.
- 11 Ouyang J, Parakhia RA, Ochs RS. Metformin activates AMP kinase through inhibition of AMP deaminase. *J Biol Chem* 2011; 286(1): 1–11.
- 12 Tsoyi K, Jang HJ, Nizamutdinova IT, Kim YM, Lee YS, Kim HJ, Seo HG, Lee JH, Chang KC. Metformin inhibits HMGB1 release in LPS-treated RAW 264.7 cells and increases survival rate of endotoxaemic mice. *Br J Pharmacol* 2011; 162(7): 1498–1508.
- 13 Schug TT, Xu Q, Gao H, Peres-da-Silva A, Draper DW, Fessler MB, Purushotham A, Li X. Myeloid deletion of SIRT1 induces inflammatory signaling in response to environmental stress. *Mol Cell Biol* 2010; 30(19): 4712–4721.
- 14 Imai S, Armstrong CM, Kaeberlein M, Guarente L. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* 2000; 403(6771): 795–800.
- 15 Fulco M, Cen Y, Zhao P, Hoffman EP, McBurney MW, Sauve AA, Sartorelli V. Glucose restriction inhibits skeletal myoblast differentiation by activating SIRT1 through AMPK-mediated regulation of Nampt. *Dev Cell* 2008;

- 14(5): 661–673.
- 16 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* 2009; 458(7241): 1056–1060.
- 17 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* 2008; 283(41): 27628–27635.
- 18 Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease. *Nature* 2008; 454(7203): 463–469.
- 19 Alvarez-Guardia D, Palomer X, Coll T, Davidson MM, Chan TO, Feldman AM, Laguna JC, Vázquez-Carrera M. The p65 subunit of NF- κ B binds to PGC-1 α , linking inflammation and metabolic disturbances in cardiac cells. *Cardiovasc Res* 2010; 87(3): 449–458.
- 20 Kim HJ, Park KG, Yoo EK, Kim YH, Kim YN, Kim HS, Kim HT, Park JY, Lee KU, Jang WG, Kim JG, Kim BW, Lee IK. Effects of PGC-1 α on TNF- α -induced MCP-1 and VCAM-1 expression and NF- κ B activation in human aortic smooth muscle and endothelial cells. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9(3): 301–307.
- 21 Morari J, Torsoni AS, Anê GF, Roman EA, Cintra DE, Ward LS, Bordin S, Velloso LA. The role of proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α in the fatty-acid-dependent transcriptional control of interleukin-10 in hepatic cells of rodents. *Metabolism* 2010; 59(2): 215–223.
- 22 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* 2007; 104(29): 12017–12022.
- 23 Gerhart-Hines Z, Rodgers JT, Bare O, Lerin C, Kim SH, Mostoslavsky R, Alt FW, Wu Z, Puigserver P. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α . *EMBO J* 2007; 26(7): 1913–1923.
- 24 Jones RG, Plas DR, Kubek S, Buzzai M, Mu J, Xu Y, Birnbaum MJ, Thompson CB. AMP-Activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2005; 18(3): 283–293.
- 25 Liu G, Park YJ, Tsuruta Y, Lorne E, Abraham E. p53 Attenuates lipopolysaccharide-induced NF- κ B activation and acute lung injury. *J Immunol* 2009; 182(8): 5063–5071.
- 26 Ak P, Levine AJ. p53 and NF- κ B: different strategies for responding to stress lead to a functional antagonism. *FASEB J* 2010; 24(10): 3643–3652.
- 27 Monsalve M, Olmos Y. The complex biology of FOXO. *Curr Drug Targets* 2011; 12(9): 1322–1350.
- 28 Greer EL, Oskoui PR, Banko MR, Maniar JM, Gygi MP, Gygi SP, Brunet A. The energy sensor AMP-activated protein kinase directly regulates the mammalian FOXO3 transcription factor. *J Biol Chem* 2007; 282(41): 30107–30119.
- 29 Lin L, Hron JD, Peng SL. Regulation of NF- κ B, Th activation, and autoinflammation by the forkhead transcription factor Foxo3a. *Immunity* 2004; 21(2): 203–213.
- 30 Kolb H, Mandrup-Poulsen T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. *Diabetologia* 2010; 53(1): 10–20.
- 31 Schöndorf T, Musholt PB, Hohberg C, Forst T, Lehmann U, Fuchs W, Löbig M, Müller J, Pfützner A. The fixed combination of pioglitazone and metformin improves biomarkers of platelet function and chronic inflammation in type 2 diabetes patients: results from the PIOfix study. *J Diabetes Sci Technol* 2011; 5(2): 426–432.
- 32 Chakraborty A, Chowdhury S, Bhattacharyya M. Effect of metformin on oxidative stress, nitrosative stress and inflammatory biomarkers in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93(1): 56–62.
- 33 Raso GM, Esposito E, Iacono A, Pacilio M, Cuzzocrea S, Canani RB, Calignano A, Meli R. Comparative therapeutic effects of metformin and vitamin E in a model of non-alcoholic steatohepatitis in the young rat. *Eur J Pharmacol* 2009; 604(1–3): 125–131.
- 34 Nath N, Khan M, Paintlia MK, Singh I, Hoda MN, Giri S. Metformin attenuated the autoimmune disease of the central nervous system in animal models of multiple sclerosis. *J Immunol* 2009; 182(12): 8005–8014.
- 35 Jeong HW, Hsu KC, Lee JW, Ham M, Huh JY, Shin HJ, Kim WS, Kim JB. Berberine suppresses proinflammatory responses through AMPK activation in macrophages. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(4): E955–E964.
- 36 Kim YW, Lee SM, Shin SM, Hwang SJ, Brooks JS, Kang HE, Lee MG, Kim SC, Kim SG. Efficacy of sauchinone as a novel AMPK-activating lignan for preventing iron-induced oxidative stress and liver injury. *Free Radic Biol Med* 2009; 47(7): 1082–1092.