

基于 p38MAPK、AMPK 探讨华蟾毒精杀伤人肝癌细胞的机制

曹 秀， 向远彩， 邓程凤， 代荣阳， 刘友平*
(西南医科大学生物化学与分子生物学教研室，四川 泸州 646000)

摘要：目的 研究华蟾毒精对肝癌细胞系 SK-Hep1 和 HepG2 细胞凋亡、DNA 损伤的影响及作用机制。方法 取对数生长期肝癌细胞，采用不同浓度（5、10、25、50 nmol/L）华蟾毒精，或干扰 p38MAPK/AMPK + 华蟾毒精（50 nmol/L）处理肝癌细胞，乳酸脱氢酶（LDH）法检测细胞毒性，Western blot 法检测凋亡标志蛋白 PARP、DNA 损伤标志蛋白 γ -H2AX 以及 p-p38MAPK、p-AMPK 蛋白表达。**结果** 与对照组比较，华蟾毒精处理后肝癌细胞 PARP、 γ -H2AX、p-p38MAPK 及 p-AMPK 蛋白表达均呈现剂量和时间依赖性增加（ $P<0.05$ ），可引起肝癌细胞死亡（ $P<0.05$ ）；下调 p38MAPK 基因表达后，华蟾毒精诱导的肝癌细胞 PARP、 γ -H2AX 蛋白表达均降低（ $P<0.05$ ），但 p-AMPK 蛋白表达升高（ $P<0.05$ ）；下调 AMPK 基因表达后，华蟾毒精诱导的肝癌细胞 PARP、 γ -H2AX 以及 p-p38MAPK 蛋白表达均升高（ $P<0.05$ ），肝癌细胞死亡率增加（ $P<0.05$ ）。**结论** 华蟾毒精可同时激活肝癌细胞中 p38MAPK 和 AMPK 表达；激活的 p38MAPK 可促进华蟾毒精诱导的肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤；而激活的 AMPK 可抑制华蟾毒精诱导的肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤；人肝癌细胞中华蟾毒精激活 p38MAPK 的力度大于 AMPK，最终达到杀伤肿瘤的作用。

关键词：华蟾毒精；肝癌细胞；凋亡；DNA 损伤；p38MAPK；AMPK

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2023)02-0596-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.02.046

原发性肝癌主要为肝细胞癌（占 75%~85%），是全球第 6 大最常见的恶性肿瘤，致死率居第 4 顺位，每年新发病例超过 84 万，其中 50% 发生在中国^[1]。肝癌目前主要的治疗手段有切除移植、放化疗和外科手术综合治疗。多数患者因发病隐匿，通常在晚期确诊且合并肝硬化，治疗选择受到限制，预后较差^[2-3]。近年来，中药以其来源广泛、价格低廉、毒副作用较低等优点，被普遍用于实验研究和临床。华蟾毒精是中药蟾酥的主要活性成分之一，具有抑制肿瘤增殖和血管形成，诱导肿瘤细胞凋亡的作用^[4]。大量研究发现，华蟾毒精对肝癌^[5-6]、前列腺癌^[7]、结直肠癌^[8]等都具有杀伤作用，但其具体的抗肿瘤机制还缺乏深入的认识。已有研究表明，华蟾毒精可通过激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶（p38MAPK）信号通路诱导胃癌^[9]、骨肉瘤细胞凋亡^[10]，而 p38MAPK 又可作为腺苷酸活化蛋白激酶（AMPK）信号通路的下游分子诱导骨肉瘤细胞凋亡^[11]。因此，本实验采用华蟾毒精处理肝癌细胞系 SK-Hep1 和 HepG2，通过检测凋亡标志蛋白聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶 [poly（ADP-ribose）polymerase，PARP]、DNA 损伤标志蛋白磷酸化的组蛋白 H2AX（ γ -H2AX）、p-p38MAPK 及 p-AMPK 等表达，以研究华蟾毒精对肝癌细胞的杀伤作用机制，为华蟾毒精治疗肝癌提供新的实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂 华蟾毒精（纯度 98.90%，CAS 号 470-37-1）购自美国 MedChemExpress 公司。Lipofectamine3000 转染试剂购自美国 Invitrogen 公司；1×OptiMEM 无血清培养液购自美国 Gibco 公司；乳酸脱氢酶细胞（LDH）毒性检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司；PARP、 γ -H2AX、H2AX、p-p38、p38、p-AMPK、AMPK 一抗均购自美国 Cell Signaling Technology 公司；甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）一抗购自美国 Santa Cruz 公司；阴性对照（NC）-siRNA、AMPK α 1-siRNA、p38MAPK-siRNA 购自上海吉玛制药技术有限公司，引物序列见表 1。

表 1 引物序列	
名称	序列(5'→3')
NC-siRNA	正向 5'-UUCUCCGACGUGUCACGUTT-3'
	反向 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'
p38MAPK-siRNA	正向 5'-AAUCACAUUUUCAUGUUUCAU-3'
	反向 5'-GAAACAUGAAAAUGUGAAU-3'
AMPK α 1-siRNA	正向 5'-GGAUCCAUAUAGUUCATT-3'
	反向 5'-UGAACUAUAUGAUGGAUCCTC-3'

1.2 仪器 二氧化碳恒温培养箱（美国 Thermo 公司）；倒置相差显微镜（日本 Olympus 公司）；低温离心机（美国

收稿日期：2021-09-16

基金项目：四川省教育厅创新团队项目（16TD0021）；四川科技厅基金项目（2019YJ0482）；泸州市西南医科大学联合基金项目（2019LZXNYDZ03）

作者简介：曹 秀（1993—），女，硕士生，从事肝胆肿瘤的分子机制研究。Tel：13696021912，E-mail：1007974167@qq.com

* 通信作者：刘友平（1969—），女，教授，从事肝胆肿瘤的分子机制研究。Tel：（0830）2583139，E-mail：lyp2507622@163.com

Thermo 公司); 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); 红外发光成像系统 (美国 LI-COR 公司); 电泳系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 人肝癌细胞 SK-Hep1 和 HepG2 购自中国科学院上海细胞库, 用含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 于 5% CO₂、37 ℃ 加湿孵箱中培养, 细胞单层贴壁生长, 视具体状态更换培养基。

2.2 乳酸脱氢酶 (LDH) 法检测细胞毒性 取对数期肝癌细胞接种到 96 孔板中, 细胞培养箱中培养 24 h, 每孔加入不同浓度华蟾毒精 (5、10、25、50 nmol/L), 以 DMSO 为空白对照, 不做任何处理为最大酶活性对照孔, 每个浓度设置 3 个复孔, 继续培养 12 h, 检测前 1 h, 在最大酶活性对照孔中加入 LDH 释放液后继续放入培养箱中培养, 1 h 后将 96 孔板在 400×g 条件下离心 5 min, 各孔取 80 μL 上清液加入到新的 96 孔板中, 再向每孔中加入 30 μL LDH 工作液, 混匀后室温避光孵育 30 min, 用酶标仪在 490 nm 波长处检测吸光度值。

2.3 siRNA 转染 将细胞接种在 6 孔板中, 待融合度达 70%~80% 时, PBS 洗 2 次, 每孔加入 800 μL Opti-MEM。将 2.5 μL NC/ AMPKα1/p38MAPK-siRNA 与 100 μL 无血清培养液的 1×Opti-MEM 混合, 同时将 4 μL Lipofectamine 3000 转染试剂与 100 μL Opti-MEM 混合, 静置 5 min, 将 2 种溶液混合静置 15 min 后, 加入到对应的孔内, 放入培养箱中培养 6~8 h, 更换正常培养基培养 18 h 后, 用 DMSO 或 50 nmol/L 华蟾毒精处理 12 h, 收集细胞用于 Western blot 检测。

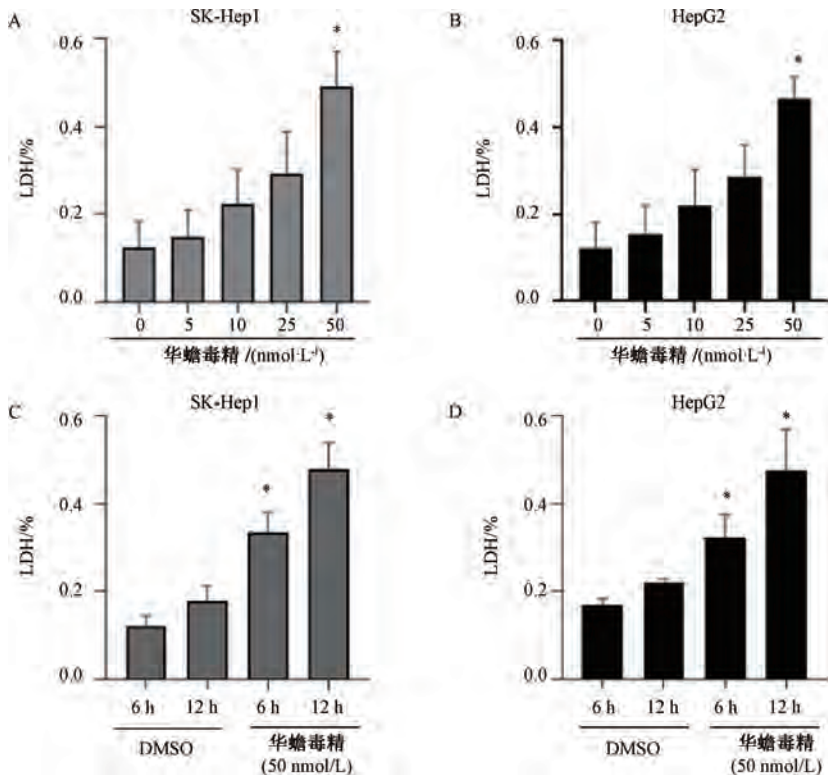
2.4 Western blot 法检测细胞 PARP、γ-H2AX、p-p38MAPK、p-AMPK 蛋白表达 取对照组 (DMSO)、华蟾毒精组 (5、10、25、50 nmol/L) 及干扰 AMPK/p38MAPK + 华蟾毒精 (50 nmol/L) 组的肝癌细胞, 用 IP 裂解液于冰上提取细胞总蛋白, 超声破碎, 4 ℃ 离心后, 采用 BCA 法进行蛋白定量, 具体操作按照试剂盒说明书进行, 将蛋白样品与上样缓冲液充分混匀, 通过 SDS-PAGE 凝胶电泳、湿转、封闭、切膜, 加入一抗于 4 ℃ 冰箱孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 加入二抗室温避光孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次, Odessey-CLX 扫描显影, 即得到目的蛋白的免疫印迹图。

2.5 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.3.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *t* 检验。以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 华蟾毒精对肝癌细胞的影响

3.1.1 华蟾毒精对肝癌细胞毒性的影响 与 0 nmol/L 华蟾毒精组比较, 5、10、25、50 nmol/L 华蟾毒精处理 12 h 后, SK-Hep1 和 HepG2 细胞 LDH 释放量均增加, 细胞毒性增强, 并呈浓度依赖性, 见图 1A~1B。随后选用效果最为显著的 50 nmol/L 华蟾毒精处理肝癌细胞 6、12 h, 与对照组 (DMSO) 比较, 50 nmol/L 华蟾毒精组 SK-Hep1 和 HepG2 细胞 LDH 释放量均增加 (*P* < 0.05), 细胞毒性增强, 并呈时间依赖性, 见图 1C~1D。结果表明, 华蟾毒精对肝癌 SK-Hep1 和 HepG2 细胞具有明显的毒性作用。

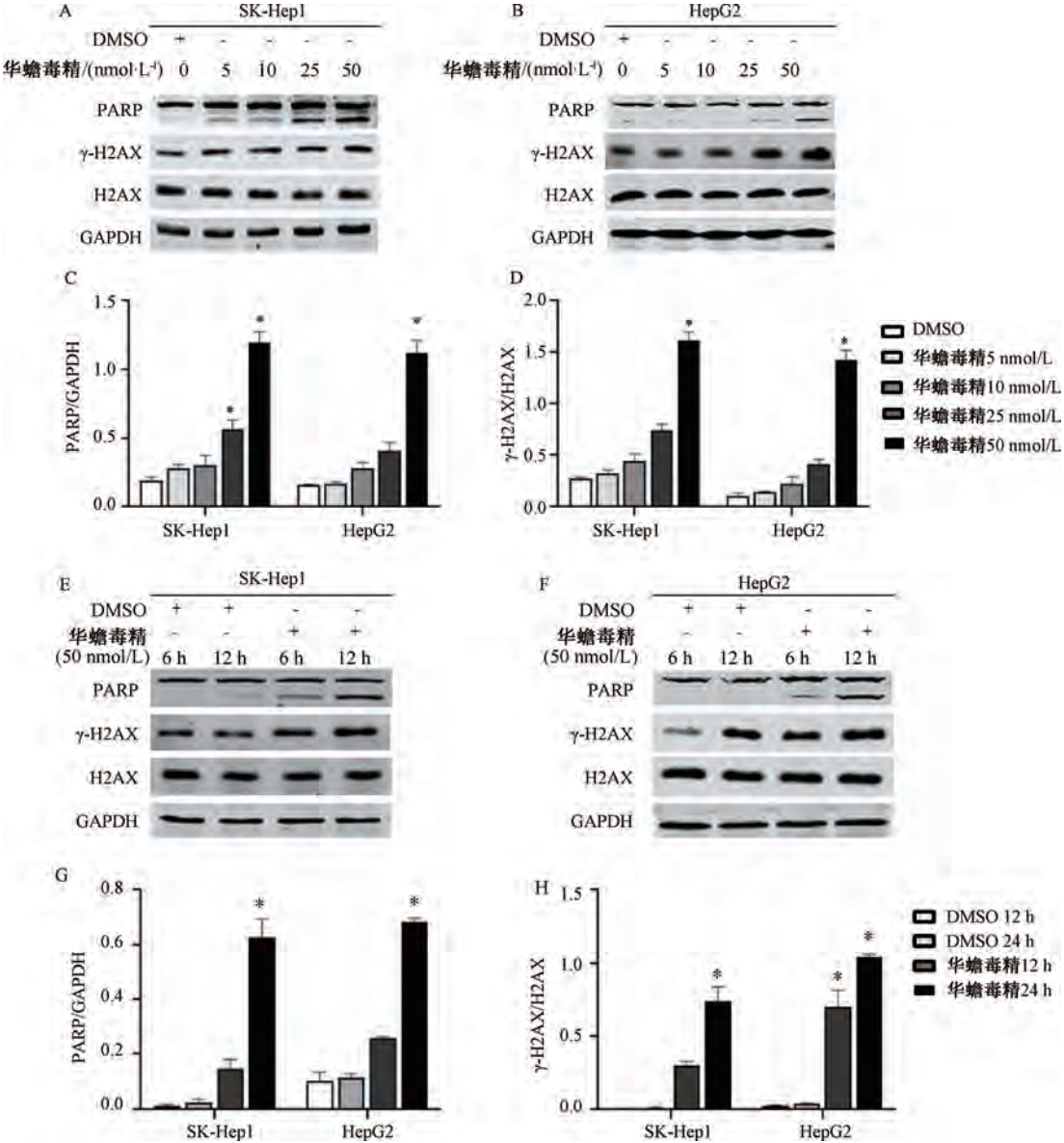


注: 与对照组 (DMSO) 比较, * *P* < 0.05。

图 1 华蟾毒精对肝癌细胞毒性的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)

3.1.2 华蟾毒精对肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤的影响 与对照组 (DMSO) 比较, 5、10、25、50 nmol/L 华蟾毒精处理肝癌细胞 12 h 后, 凋亡相关蛋白 PARP 以及 DNA 损伤标志蛋白 γ -H2AX 均呈剂量依赖性升高 ($P<0.05$), 见图2A~

2D; 50 nmol/L 华蟾毒精处理肝癌细胞 6、12 h 后, PARP 及 γ -H2AX 蛋白表达均呈时间依赖性升高 ($P<0.05$), 见图 2E~2H。结果表明, 华蟾毒精可以诱导肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤。



注: 与对照组比较, * $P<0.05$ 。

图 2 华蟾毒精对人肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

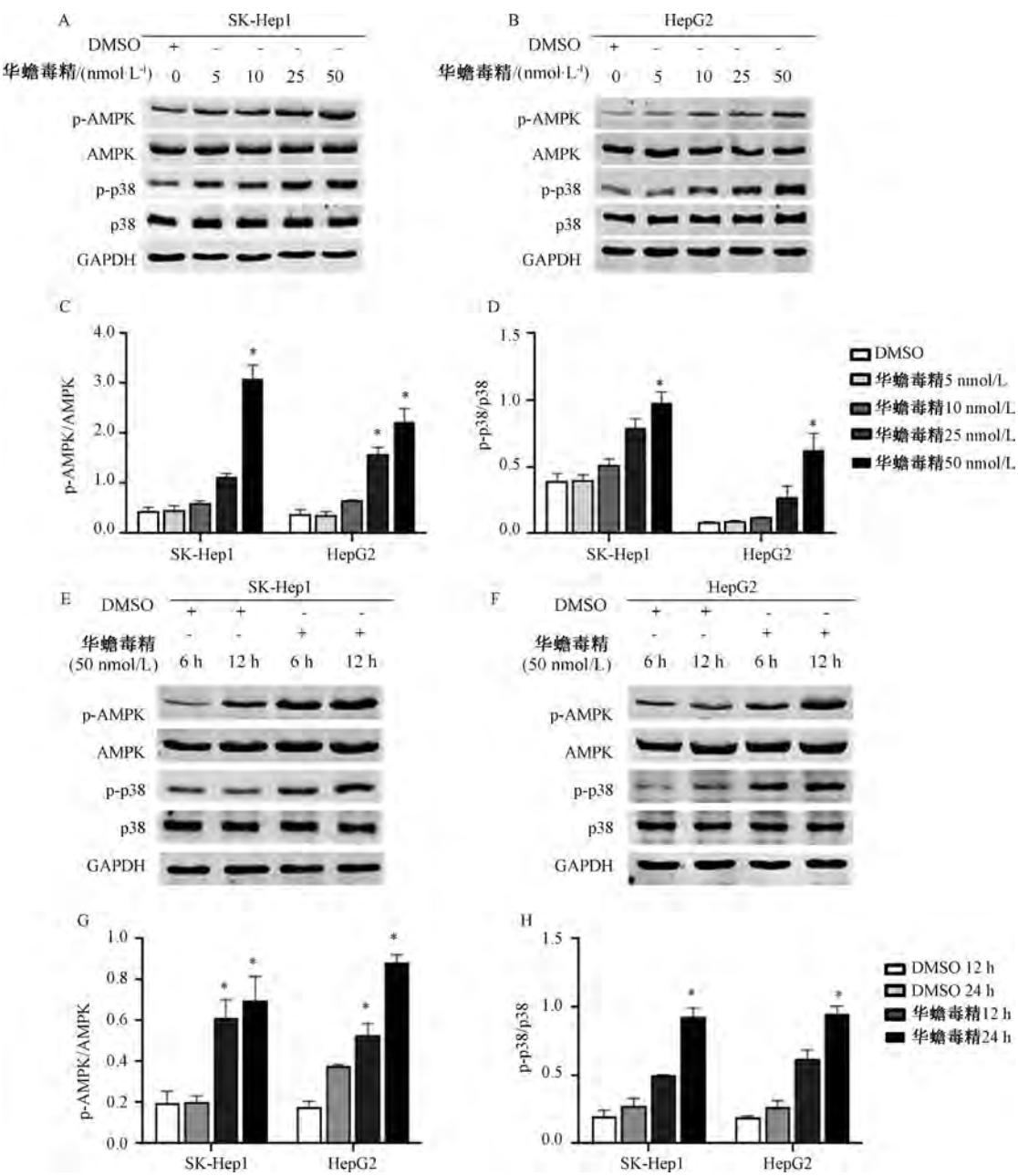
3.1.3 华蟾毒精对肝癌细胞 p-p38MAPK、p-AMPK 蛋白表达的影响 与对照组 (DMSO) 比较, 5、10、25、50 nmol/L 华蟾毒精处理肝癌细胞 12 h 后, 细胞 p-38MAPK、p-AMPK 蛋白表达升高 ($P<0.05$), 见图 3A~3D; 此外, 50 nmol/L 华蟾毒精处理肝癌细胞 6、12 h 后, p-38MAPK、p-AMPK 蛋白表达均呈时间依赖性升高 ($P<0.05$), 见图 3E~3H。结果表明, 华蟾毒精可激活肝癌细胞 p38MAPK 和 AMPK 表达。

3.2 干扰 p38MAPK 表达后华蟾毒精对肝癌细胞的影响

3.2.1 华蟾毒精通过 p38MAPK 诱导肝癌细胞凋亡和 DNA

损伤 与 siNC+华蟾毒精组比较, sip38+华蟾毒精组细胞 PARP 和 γ -H2AX 蛋白表达均降低 ($P<0.05$), 见图 4。结果表明, 华蟾毒精通过激活 p38MAPK 诱导肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤。

3.2.2 干扰 p38MAPK 表达后对肝癌细胞中 p-AMPK 表达的影响 抑制 p38MAPK 基因表达后, p-AMPK 蛋白表达升高 ($P<0.05$); 与 siNC+华蟾毒精组比较, sip38+华蟾毒精组 p-AMPK 蛋白表达进一步升高 ($P<0.05$), 见图 5。结果表明, 下调 p38MAPK 基因的表达可激活肝癌细胞中 AMPK 表达。



注：与对照组比较，* $P < 0.05$ 。

图 3 华蟾毒精对肝癌细胞 p-p38MAPK、p-AMPK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

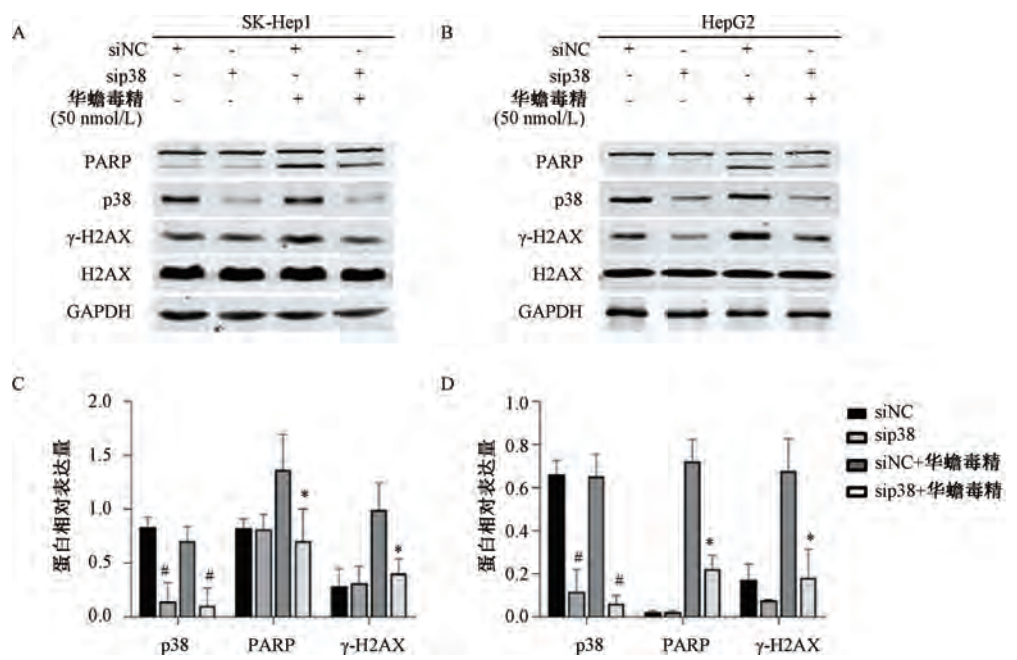
3.3 干扰 AMPK 表达后对华蟾毒精诱导肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤的影响 与 siNC+华蟾毒精组比较，siAMPK α 1+华蟾毒精组肝癌细胞 p-AMPK 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)，PARP、 γ -H2AX、p-p38MAPK 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)，见图 6A~6D；乳酸脱氢酶检测结果显示 siAMPK α 1+华蟾毒精组 LDH 水平升高 ($P < 0.05$)，见图 6E~6F。结果表明，敲低 AMPK 能够促进华蟾毒精诱导的肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤。

4 讨论

原发性肝癌是全球癌症相关发病率和死亡率高的主要原因之一，临床上常用的治疗方法均不能有效控制肿瘤的扩散和转移。广谱化疗药物在杀伤肿瘤细胞的同时，也会

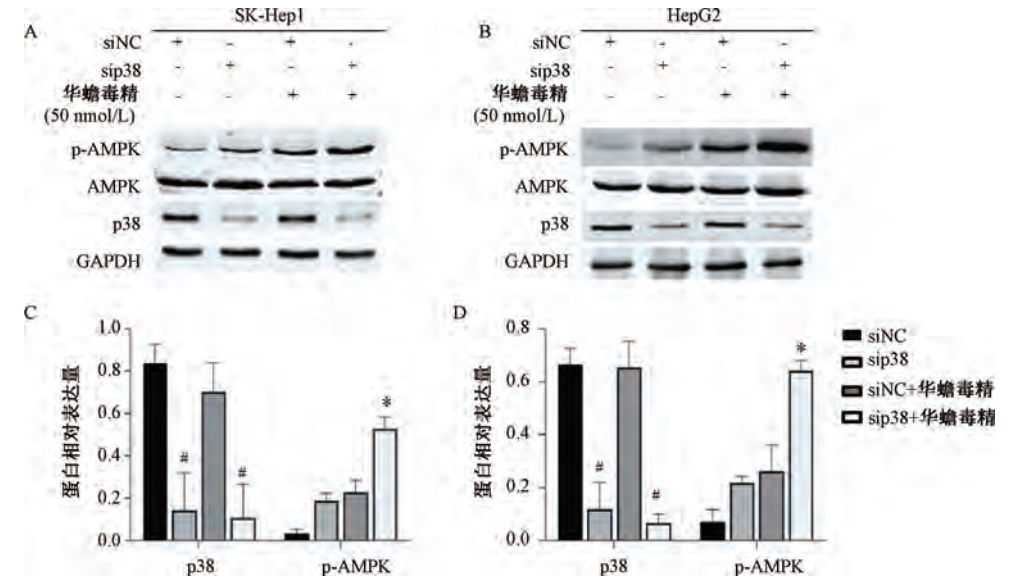
损伤机体的免疫系统，但与中医药结合可提高其治疗效果^[12-13]。最新肝癌治疗指南也推荐了若干种现代中药制剂用于手术切除后的辅助治疗，可显著缓解化疗药物的副作用，改善晚期肝癌的生存率^[14]。华蟾毒精是从中华大蟾酥中提取分离出的主要活性成分，对包括肝癌、结直肠癌、多发性骨髓瘤^[15]等肿瘤细胞具有明显的杀伤作用。本研究探索了华蟾毒精对人肝癌细胞系 SK-Hep1 和 HepG2 的影响及其分子机制。

细胞凋亡又称程序性细胞死亡，主要包括线粒体途径、死亡受体途径及其上游信号转导，例如 MAPK 途径、PI3K/Akt 途径、NF- κ B 途径等^[16]。多项研究指出，无论是放化疗药物、细胞毒性药物还是靶向药，激活肿瘤促凋亡通路



注：与 siNC 组比较, #*P*<0.05；与 siNC+华蟾毒精组比较, **P*<0.05。

图 4 华蟾毒精通过 p38MAPK 诱导肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)



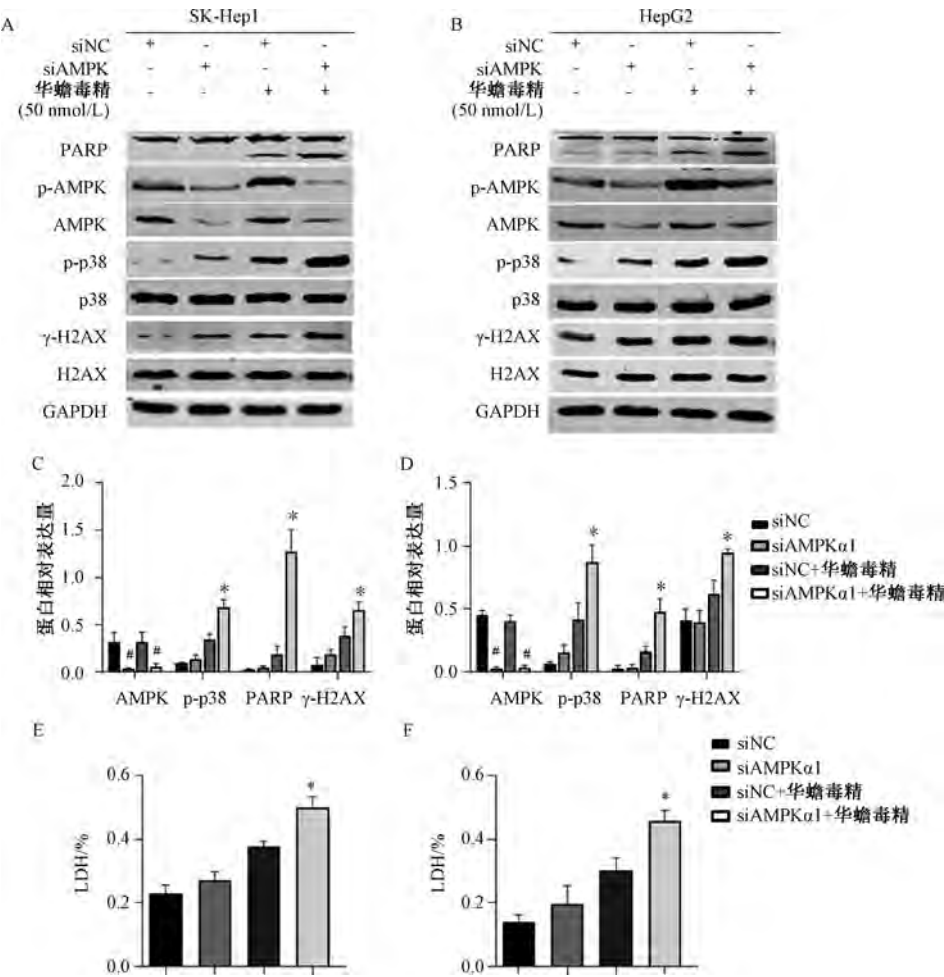
注：与 siNC 组比较, #*P*<0.05；与 siNC+华蟾毒精组比较, **P*<0.05。

图 5 干扰 p38MAPK 后对肝癌细胞中 p-AMPK 和 p38 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

是治疗肝癌细胞的一条有效途径^[17-18]。本实验发现，华蟾毒精可诱导肝癌细胞发生凋亡。p38MAPK 属于 MAPKs 家族，参与细胞增殖、分化、凋亡等众多生物学进程，活化的 p38MAPK 可以通过降低 Bcl-2/Bax 比值，诱导线粒体功能障碍，进而引起细胞凋亡^[19]。本研究结果显示，华蟾毒精上调了肝癌细胞中 p-p38MAPK 蛋白表达，提示华蟾毒精杀伤肝癌细胞可能与 p38MAPK 通路的激活有关。近年来，p38MAPK 作为一种肿瘤抑制因子引起广泛的关注，如在 HeLa 细胞中 p38MAPK 的激活可特异性抑制肿瘤的形成^[20]；在化疗过程中顺铂可以激活 p38MAPK 通路，达到

杀伤肿瘤的作用，因此可作为顺铂的特异性治疗靶点，具有重要临床意义^[21]。本实验也发现，华蟾毒精可激活 p38MAPK，而敲低 p38MAPK 表达后，华蟾毒精诱导的肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤效率降低，且 p-AMPK 表达呈现上升趋势，说明在肝癌细胞中华蟾毒精可通过激活 p38MAPK 发挥杀伤肿瘤的作用，且提示 AMPK 也参与其中。

AMPK 作为真核细胞的能量感受器，能够协调包括自噬、凋亡、细胞周期和蛋白质合成在内的一系列细胞过程，与人类疾病的发生发展密切相关，已成为许多代谢综合征和肿瘤治疗的重要靶点^[22]。近年来的诸多研究发现，



注：与 siNC 组比较, #*P*<0.05; 与 siNC+华蟾毒精组比较, **P*<0.05。

图 6 干扰 AMPK 表达后对华蟾毒精诱导肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

AMPK 在肿瘤的发生发展过程中发挥双重功能^[23]，如 AMPK 可作为一个肿瘤抑癌因子，负性调节癌细胞 Warburg 效应从而抑制肿瘤的生长^[24]；又可作为肿瘤的保护因子，通过直接磷酸化 CREB1 促进下游 HIF1α 的转录激活，从而促进葡萄糖代谢，达到加速胶质母细胞瘤生长的作用^[25]；也可通过调控不同的信号通路促进结肠癌^[26]、乳腺癌^[27]的生长。本实验结果显示，华蟾毒精可上调肝癌细胞中 p-AMPK 蛋白表达，进一步研究发现敲低 AMPKα1 后华蟾毒精诱导的肝癌细胞凋亡和 DNA 损伤程度增加，p-p38MAPK 蛋白表达也升高，表明 AMPK 可以保护肿瘤抵抗华蟾毒精的杀伤作用。值得注意的是本研究发现 p38MAPK 与 AMPK 之间似乎存在相互调控的关系，有待进一步的实验验证。

综上所述，在华蟾毒精杀伤人肝癌细胞 SK-Hep1 和 HepG2 的过程中，p38MAPK 的激活可促进肝癌细胞的凋亡和 DNA 损伤，而 AMPK 的激活可抑制肝癌细胞的凋亡和 DNA 损伤，推测在人肝癌细胞中华蟾毒精激活 p38MAPK 的力度大于 AMPK，最终达到杀伤肿瘤的作用。本研究不仅为华蟾毒精治疗肝癌的临床应用提供新的理论基础，也有望为华蟾毒精治疗肝癌提供新的思路。

参考文献：

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.

[2] Yu S J. A concise review of updated guidelines regarding the management of hepatocellular carcinoma around the world: 2010-2016[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2016, 22(1): 7-17.

[3] 陈对对, 叶子, 杨强, 等. 晚期肝细胞癌系统治疗进展 [J]. *医学综述*, 2019, 25(24): 4882-4886; 4891.

[4] 陈澜瀾, 郝艳艳, 郭夫江, 等. 蟾酥化学成分及药理活性研究进展[J]. *中草药*, 2017, 48(12): 2579-2588.

[5] Qi F H, Inagaki Y, Gao B, *et al.* Bufalin and cinobufagin induce apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells *via* Fas- and mitochondria-mediated pathways [J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(5): 951-958.

[6] Zhao L, Fu L N, Xu Z W, *et al.* The anticancer effects of cinobufagin on hepatocellular carcinoma Huh-7 cells are associated with activation of the p73 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 4119-4128.

[7]

Yu C H, Kan S F, Pu H F, *et al.* Apoptotic signaling in bufalin- and cinobufagin-treated androgen-dependent and -independent human prostate cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(12): 2467-2476.

[8]

Li X W, Chen C H, Dai Y, *et al.* Cinobufagin suppresses colorectal cancer angiogenesis by disrupting the endothelial mammalian target of rapamycin/hypoxia-inducible factor 1 α axis [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(5): 1724-1734.

[9]

Xiong X X, Lu B, Tian Q Z, *et al.* Inhibition of autophagy enhances cinobufagin-induced apoptosis in gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(1): 492-500.

[10]

Ma K, Zhang C, Huang M Y, *et al.* Cinobufagin induces autophagy-mediated cell death in human osteosarcoma U2OS cells through the ROS/JNK/p38 signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(1): 90-98.

[11]

Kamel W A, Sugihara E, Nobusue H, *et al.* Simvastatin-induced apoptosis in osteosarcoma cells: A key role of RhoA-AMPK/p38 MAPK signaling in antitumor activity [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(1): 182-192.

[12]

郭若闻, 杨 森, 曹 林, 等. 原发性肝癌的中西医结合治疗进展 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2019, 29 (6): 573-576.

[13]

林晓彤, 张荣杰, 李福阳, 等. 中西医结合治疗原发性肝癌的回顾性研究 [J]. 中药材, 2020, 43(5): 1244-1247.

[14]

中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范 (2019 年版) [J]. 中国实用外科杂志, 2020, 40(2): 121-138.

[15]

Back S H, Kim C, Lee J H, *et al.* Cinobufagin exerts anti-proliferative and pro-apoptotic effects through the modulation ROS-mediated MAPKs signaling pathway [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2015, 37(3): 265-273.

[16]

Fulda S, Debatin K M. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2004, 4 (7): 569-576.

[17]

Marquardt J U, Edlich F. Predisposition to apoptosis in hepatocellular carcinoma: From mechanistic insights to therapeutic strategies [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1421.

[18]

Cheng C W, Tse E. Targeting PIN1 as a therapeutic approach for hepatocellular carcinoma [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 7: 369.

[19]

Duan Y F, Li J J, Jing X, *et al.* Fucoidan induces apoptosis and inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma *via* the p38 MAPK/ERK and PI3K/Akt signal pathways [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 1713-1723.

[20]

Timofeev O, Lee T Y, Bulavin D V. A subtle change in p38 MAPK activity is sufficient to suppress *in vivo* tumorigenesis [J]. *Cell Cycle*, 2005, 4(1): 118-120.

[21]

Hernández Losa J, Parada Cobo C, Guinea Viniegra J, *et al.* Role of the p38 MAPK pathway in cisplatin-based therapy [J]. *Oncogene*, 2003, 22(26): 3998-4006.

[22]

Umezawa S, Higurashi T, Nakajima A. AMPK: Therapeutic target for diabetes and cancer prevention [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(25): 3629-3644.

[23]

董 莹, 臧 奕. AMPK 在肿瘤发生发展中的研究现状 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2020, 36(10): 1165-1173.

[24]

Faubert B, Boily G, Izreig S, *et al.* AMPK is a negative regulator of the Warburg effect and suppresses tumor growth *in vivo* [J]. *Cell Metab*, 2013, 17(1): 113-124.

[25]

Chhipa R R, Fan Q, Anderson J, *et al.* AMP kinase promotes glioblastoma bioenergetics and tumour growth [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(7): 823-835.

[26]

Fisher K W, Das B, Kim H S, *et al.* AMPK promotes aberrant PGC1 β expression to support human colon tumor cell survival [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(22): 3866-3879.

[27]

Yang L, He Z H, Yao J Y, *et al.* Regulation of AMPK-related glycolipid metabolism imbalances redox homeostasis and inhibits anchorage independent growth in human breast cancer cells [J]. *Redox Biol*, 2018, 17: 180-191.