

# 基于生信分析AMPK亚基在肾透明细胞癌中的作用

刘尚奇<sup>1</sup>, 高峰<sup>2</sup>, 杨艳<sup>2</sup>, 胡艳波<sup>1</sup>, 张慧明<sup>1</sup>, 高倩<sup>1</sup>, 王敏杰<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>内蒙古医科大学基础医学院, 内蒙古 呼和浩特

<sup>2</sup>内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特

收稿日期: 2023年5月21日; 录用日期: 2023年6月14日; 发布日期: 2023年6月25日

## 摘要

目的: 通过癌症基因组图谱(TCGA)数据评估AMPK亚基在肾透明细胞癌中的表达差异及患者生存预后相关性; 同时探索其对免疫细胞浸润的影响。方法: 使用TCGA的RNAseq数据和基因型组织表达(GTEX)数据库分析AMPK亚基的表达及预后价值。利用GeneCards数据库选取组成AMPK各个亚基的表达基因。使用R软件包survival (version3.2-7)进行AMPK的富集分析。我们从已发表的文章和在线数据库中下载了TCGA样本的免疫细胞浸润评分, 并对免疫细胞浸润水平与AMPK表达之间的相关性进行了分析。结果: 与健康人群相比, AMPK亚基在肾透明细胞癌组织中有显著差异表达。此外, AMPK各亚基表达与肾透明细胞癌预后, 临床分期, 免疫细胞浸润呈显著相关。结论: AMPK亚基的异常表达可能在肾透明细胞癌的发生发展中起重要作用, 每个AMPK亚基可能与肾透明细胞癌有独立的相关性。

## 关键词

TCGA, AMPK, 亚基, 肾透明细胞癌

# The Role of AMPK Subunits in Clear Cell Renal Cell Carcinoma Based on Biological Information Analysis

Shangqi Liu<sup>1</sup>, Feng Gao<sup>2</sup>, Yan Yang<sup>2</sup>, Yanbo Hu<sup>1</sup>, Huiming Zhang<sup>1</sup>, Qian Gao<sup>1</sup>, Minjie Wang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

<sup>2</sup>School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Received: May 21<sup>st</sup>, 2023; accepted: Jun. 14<sup>th</sup>, 2023; published: Jun. 25<sup>th</sup>, 2023

\*通讯作者。

文章引用: 刘尚奇, 高峰, 杨艳, 胡艳波, 张慧明, 高倩, 王敏杰. 基于生信分析 AMPK 亚基在肾透明细胞癌中的作用[J]. 临床医学进展, 2023, 13(6): 9878-9885. DOI: 10.12677/acm.2023.1361381

## Abstract

**Objective:** Evaluate the differences in the expression differences of AMPK subunit in clear cell renal cell carcinoma through the cancer genome atlas (TCGA) data and patient survival prognosis correlation; simultaneously explore its impact on immune cell infiltration. **Methods:** Use TCGA's RNAseq data and the genotype-tissue expression (GTEx) database to analyze the expression and prognosis value of AMPK subunits. Use the Gene Cards database to select an expression gene to form AMPK subunits. Use the R software package Survival (version3.2-7) for AMPK subunits enrichment. We downloaded the immune cell infiltration scores of the TCGA sample from published articles and online databases. We analyzed the correlation between the infiltration level of immune cells and the expression of AMPK subunits. **Results:** Compared with healthy people, AMPK subunits significantly differ in renal transparent cell carcinoma tissue. In addition, AMPK subunits expression is significantly correlated with the prognosis of renal evident cell cancer, clinical stage, and immune cell infiltration. **Conclusion:** The abnormal expression of the AMPK subunit may play an essential role in the development of clear cell renal cell carcinoma, and each AMPK subunit may have an independent function.

## Keywords

TCGA, AMPK, Subunit, ccRCC

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肾透明细胞癌(Clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是最常见和最具侵袭性的肾癌组织学类型, 约占所有肾脏肿瘤的 70%~80% [1]。尽管手术切除是 ccRCC 患者的主要治疗方法, 但疾病的复发以及对化疗和放射的抵抗仍然是一个紧迫的挑战。虽然现在有几种有效的药物用于治疗转移性疾病, 但其一般不能产生持久的完全反应, 需要对大多数患者进行长期治疗, 因此必须权衡益处和治疗的总体负担, 包括急性和慢性毒性、时间和成本[1]。而能量感应代谢途径的失调是 ccRCC 发生和发展的关键特征之一[2]。

能量平衡对维持细胞存活和体内动态平衡非常重要。为了应对导致能量失衡的各种压力, 细胞需要发展保护机制来维持能量平衡和细胞生存。AMP 依赖的蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK)由  $\alpha$ -亚基( $\alpha 1, \alpha 2$ )和  $\beta$ -亚基( $\beta 1, \beta 2$ )和  $\gamma$ -亚基( $\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3$ )三种亚基构成, 其中,  $\alpha$  亚基,  $\beta$  亚基和  $\gamma$  亚基分别在催化作用、维持三聚体稳定性和底物特异性方面起重要作用[3] [4]。AMPK 是一种重要的能量感受器, 在热量限制、运动、衰老和肥胖等各种刺激下被激活, 调节不同的信号和代谢途径, 从而维持能量平衡, 成为新陈代谢的守护者[5] [6]。而多项研究证明 AMPK 在实体肿瘤的治疗中发挥着积极作用[7] [8]。

在本研究中, 我们探讨了 AMPK 亚基的表达及其与肾透明细胞癌患者预后的关系。通过生物信息学分析, 为 AMPK 亚基在 ccRCC 中的功能作用提供了新的见解, 同时为基础研究与临床治疗提供了新的方向。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 数据采集

从 UCSCXena 数据库(<https://xenabrowser.net/datapages/>)下载癌症基因组图谱(The Cancer Genome At-

las, TCGA)和基因型-组织表达(The Genotype-Tissue Expression, GTEx)的RNA表达和临床数据。使用GeneCards数据库分别下载AMPK $\alpha$ 1, AMPK $\alpha$ 2, AMPK $\beta$ 1, AMPK $\beta$ 2, AMPK $\gamma$ 1, AMPK $\gamma$ 2与AMPK $\gamma$ 3等亚基的表达基因PRKAA1, PRKAA2, PRKAB1, PRKAB2, PRKAG1, PRKAG2与PRKAG3的基因数据。

## 2.2. 泛癌分析

从TCGA与GTEx数据库中提取AMPK的表达基因ENSG00000162409在各个肿瘤样本中的表达数据,进一步的对每一个表达值进行了 $\log_2(x + 0.001)$ 变换,最后我们还剔除了单个癌种中样本个数小于3个的癌种,最终获得了34个癌种的表达数据。

## 2.3. 免疫细胞浸润分析

我们从TCGA与GTEx数据库中提取了AMPK亚基基因在各个样本中表达的标准化数据集,进一步的我们筛选了样本来源为:Kidney renal clear cell carcinoma (TCGA-KIRC)的样本,更进一步的对每一个表达值进行了 $\log_2(x + 0.001)$ 变换,此外我们还从中分别提取了ccRCC的基因表达谱,将表达谱映射到GeneSymbol上,更进一步的利用R软件包ESTIMATE (version1.0.13, <https://www.rdocumentation.org/packages/EstimateGroupNetwork/versions/0.3.1>)根据基因表达计算了肿瘤中每个患者的ESTIMATE和免疫评分。

## 2.4. 预后分析

我们从发表在《Cell》上的TCGA预后研究中获得了高质量的TCGA的预后数据集,从UCSC数据库中获取了TARGET随访数据作为补充,并剔除随访时间短于30天的样本,进一步的对每一个表达值进行了 $\log_2(x + 0.001)$ 变换。采用Kaplan-Meier分析评估AMPK亚基在TCGA队列肾透明细胞癌患者的总生存期(Overall Survival, OS)中的影响。R软件包survival (version3.2-7)的coxph函数建立COX比例风险回归模型分析基因表达与肿瘤的预后关系。

## 2.5. 统计学方法

使用R语言4.2.2软件进行数据的统计分析,计量资料使用平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,使用 $t$ 检验分析组间的差异。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

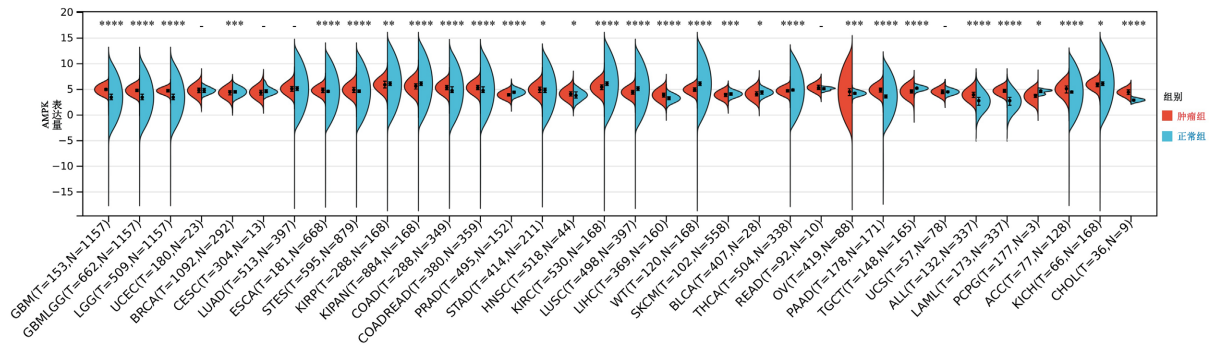
## 3. 结果

### 3.1. AMPK在肾透明细胞癌中的表达分析

使用TCGA数据库对AMPK在各个样本的表达情况进行泛癌分析。结果显示,相对于正常样本,在包含ccRCC的25种肿瘤中观察到AMPK的表达明显下调,在4种肿瘤中表达明显上调(见图1)。同时我们将PRKAA1, PRKAA2, PRKAB1, PRKAB2, PRKAG1, PRKAG2与PRKAG3等7种基因按照健康人群与ccRCC患者肾脏组织进行分组分析其表达情况,在ccRCC肿瘤组织表达进行统计分析,结果发现,AMPK $\alpha$ 2, AMPK $\beta$ 1, AMPK $\gamma$ 2三种亚型在ccRCC中表达明显降低( $P < 0.01$ ) (见图2(a)-(g))。

### 3.2. AMPK与肾透明细胞癌临床分期之间的联系

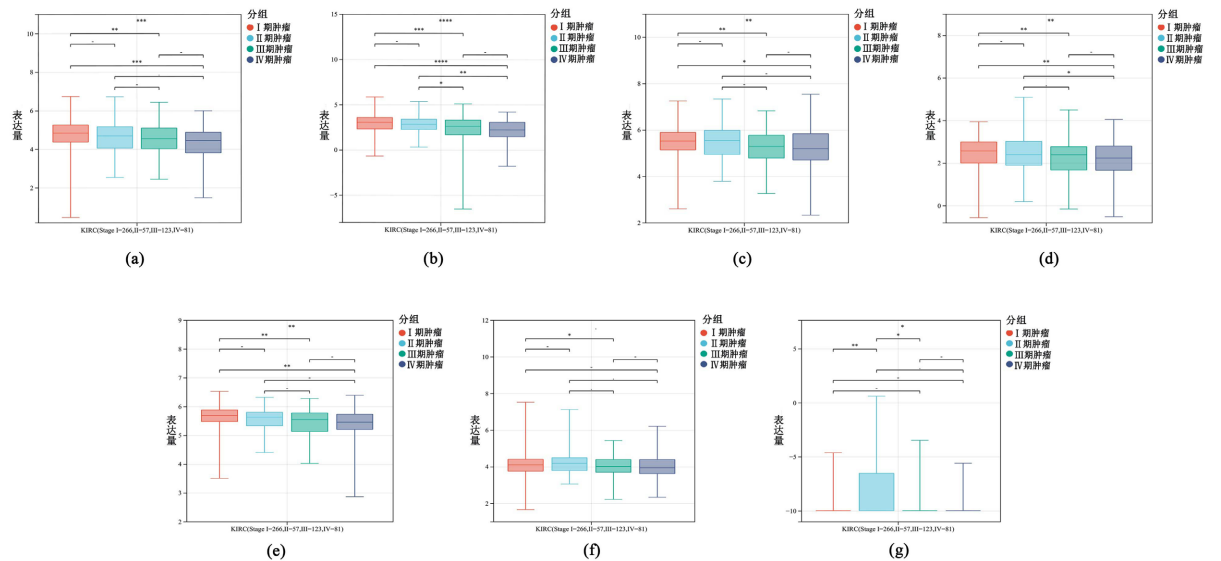
我们通过分析TCGA临床数据与AMPK各个亚型基因的表达谱,进一步评估了AMPK在ccRCC中不同癌症分期中的表达,发现PRKAA1, PRKAA2, PRKAB1, PRKAB2与PRKAG1等5种基因表达随着癌症的进展表达逐渐降低(见图3(a)-(g))。其中PRKAA1, PRKAA2表达显著降低( $P < 0.01$ ),这些结果表明,AMPK的表达与ccRCC临床病程进展可能密切相关。



ACC: 肾上腺皮质癌; BLCA: 膀胱尿路上皮癌; BRCA: 乳腺浸润癌; CESC: 宫颈鳞癌和腺癌; CHOL: 胆管癌; COAD: 结肠癌; COADREAD: 结直肠癌; DLBC: 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤; ESCA: 食管癌; GBM: 多形成性胶质细胞瘤; GBMLGG: 胶质瘤; HNSC: 头颈鳞状细胞癌; KICH: 肾嫌色细胞癌; KIPAN: 混合肾癌; KIRC: 肾透明细胞癌; KIRP: 肾乳头状细胞癌; LAML: 急性髓细胞样白血病; LGG: 脑低级别胶质瘤; LIHC: 肝细胞肝癌; LUAD: 肺腺癌; LUSC: 肺鳞癌; MESO: 间皮瘤; OV: 卵巢浆液性囊腺癌; PAAD: 胰腺癌; PCPG: 嗜铬细胞瘤和副神经节瘤; PRAD: 前列腺癌; READ: 直肠腺癌; SARC: 肉瘤; STAD: 胃癌; SKCM: 黑色素瘤; STES: 胃和食管癌; TGCT: 睾丸癌; THCA: 甲状腺癌; THYM: 胸腺癌。

Figure 1. The difference in expression of AMPK in various cancers

图 1. AMPK 在各种癌症中的表达差异



(a) AMPK $\alpha$ 1 亚型组; (b) AMPK $\alpha$ 2 亚型组; (c) AMPK $\beta$ 1 亚型组; (d) AMPK $\beta$ 2 亚型组; (e) AMPK $\gamma$ 1 亚型组; (f) AMPK $\gamma$ 2 亚型组; (g) AMPK $\gamma$ 3 亚型组。

Figure 2. The expression of AMPK subunits in clear cell renal cell carcinoma

图 2. AMPK 亚基在肾透明细胞癌中的表达

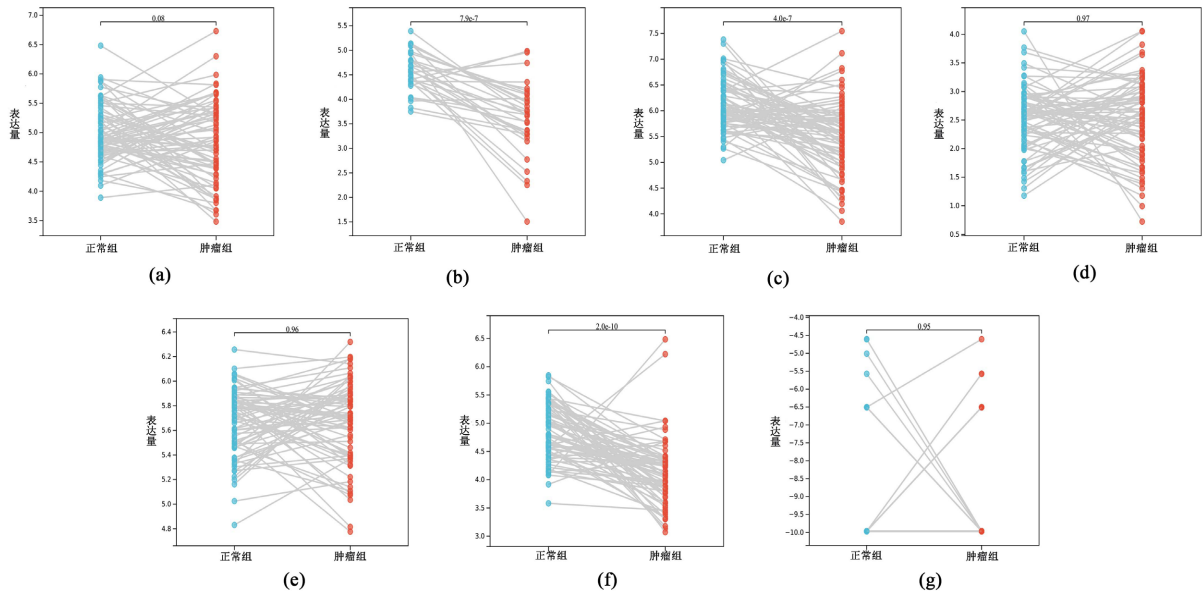
### 3.3. AMPK 的表达与肾透明细胞癌的预后分析

Kaplan-Meier OS 分析结果表明, PRKAA1, PRKAA2, PRKAB1, PRKAB2, PRKAG1 与 PRKAG2 的表达为 ccRCC 患者的保护因素(见图 4(a)-(g)), 显著提高了 ccRCC 患者的生存率( $P < 0.01$ )。

### 3.4. AMPK 与免疫调节之间的关系

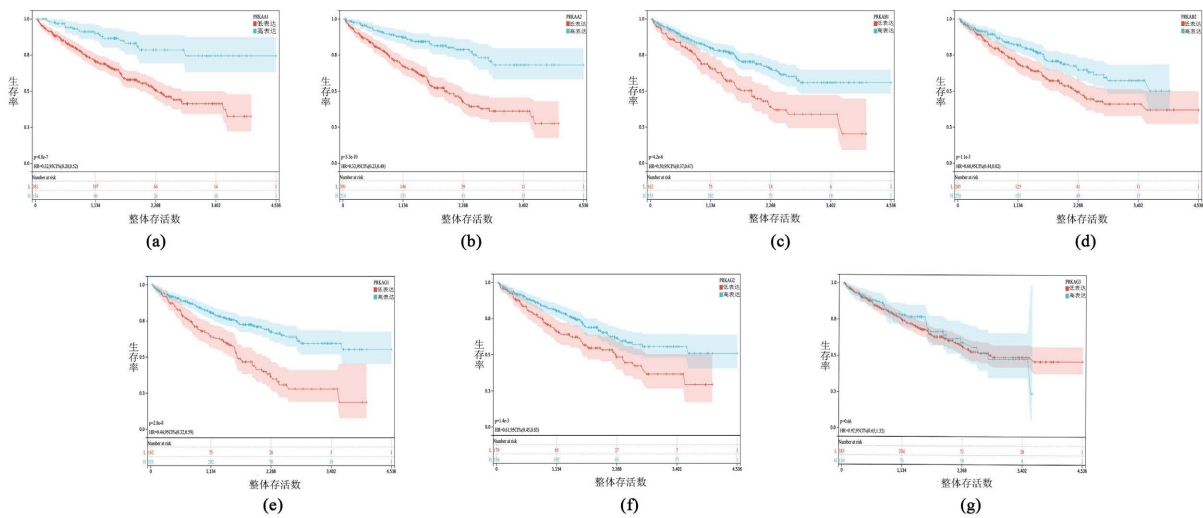
我们在数据集中提取了 AMPK 各亚基表达基因在 ccRCC 患者样本中的表达数据获得免疫浸润评分。

通过计算分析我们观察到ccRCC的免疫浸润与PRKAA1,PRKAB1呈显著正相关( $P < 0.01$ ),但是PRKAB1呈显著负相关( $P < 0.01$ ) (见图 5(a)~(g))。



(a) AMPK $\alpha$ 1 亚型组; (b) AMPK $\alpha$ 2 亚型组; (c) AMPK $\beta$ 1 亚型组; (d) AMPK $\beta$ 2 亚型组; (e) AMPK $\gamma$ 1 亚型组; (f) AMPK $\gamma$ 2 亚型组; (g) AMPK $\gamma$ 3 亚型组。

**Figure 3.** The effect of AMPK subunits on the clinical classification of clear cell renal cell carcinoma  
**图 3.** AMPK 亚基对肾透明细胞癌临床分级的影响



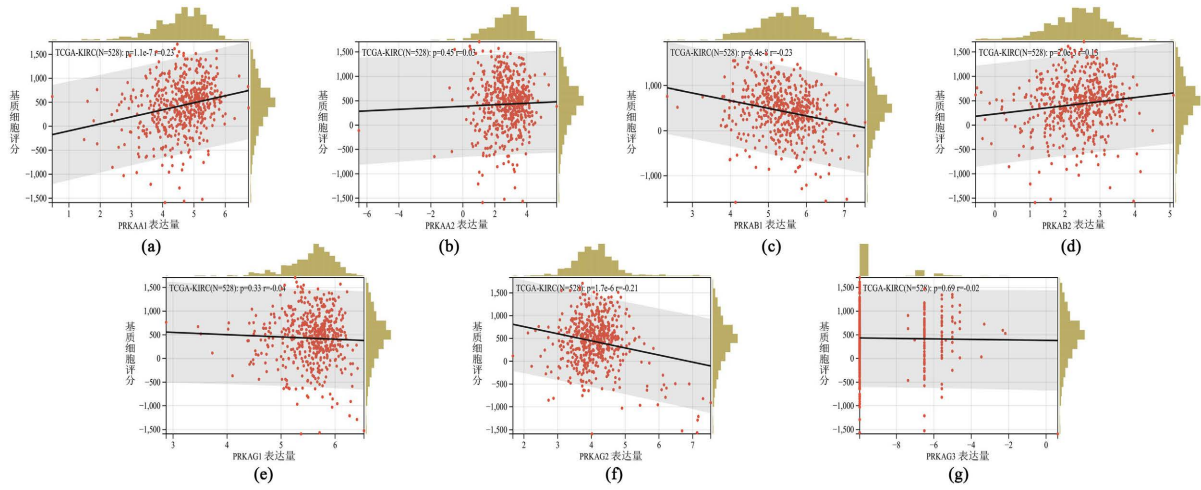
(a) AMPK $\alpha$ 1 亚型组; (b) AMPK $\alpha$ 2 亚型组; (c) AMPK $\beta$ 1 亚型组; (d) AMPK $\beta$ 2 亚型组; (e) AMPK $\gamma$ 1 亚型组; (f) AMPK $\gamma$ 2 亚型组; (g) AMPK $\gamma$ 3 亚型组。

**Figure 4.** Correlation analysis of AMPK subunits and clinical survival of clear cell renal cell carcinoma  
**图 4.** AMPK 亚基与肾透明细胞癌临床生存率的相关性分析

同时我们分析了 AMPK 各亚基表达基因与 B 细胞、CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞与树突状细胞等免疫细胞浸润的相关性。然后我们对与肿瘤浸润密切相关的 CD8+ T 细胞与 CAFs



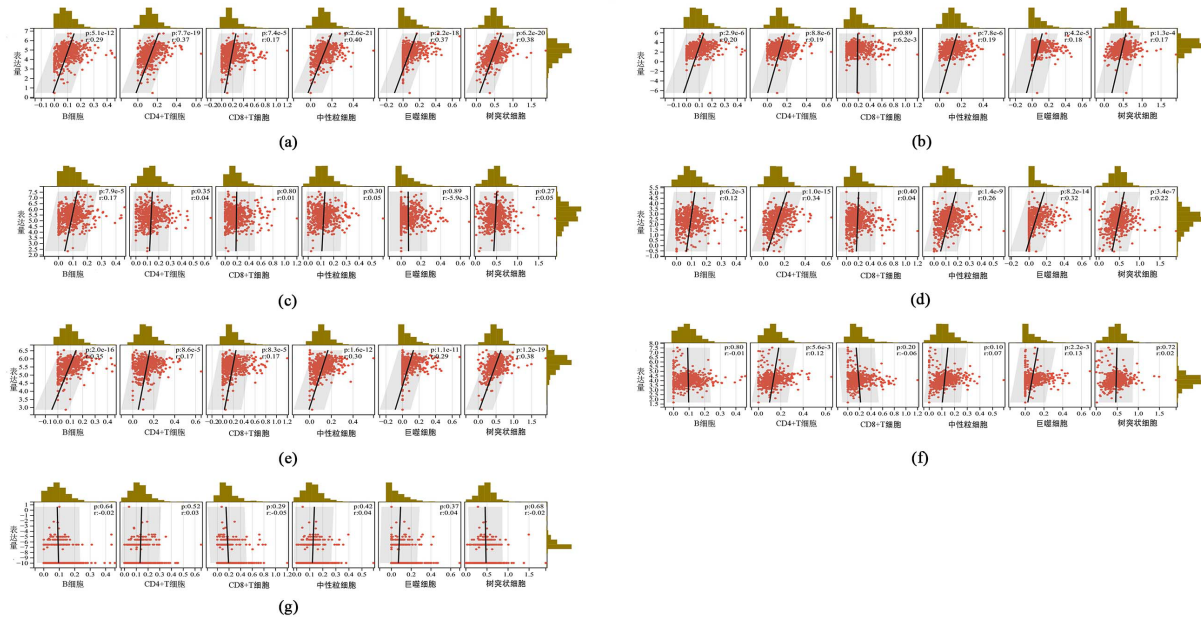
细胞进行了进一步分析,发现 PRKAA1,PRKAG1 的表达与 CD8+ T 细胞浸润水平呈显著正相关( $P < 0.01$ ) (见图 6(a)~(g))。



(a) AMPK $\alpha$ 1 亚型组; (b) AMPK $\alpha$ 2 亚型组; (c) AMPK $\beta$ 1 亚型组; (d) AMPK $\beta$ 2 亚型组; (e) AMPK $\gamma$ 1 亚型组; (f) AMPK $\gamma$ 2 亚型组; (g) AMPK $\gamma$ 3 亚型组。

Figure 5. Correlation between AMPK subunits and immune infiltration

图 5. AMPK 亚基与免疫浸润之间的相关性



(a) AMPK $\alpha$ 1 亚型组; (b) AMPK $\alpha$ 2 亚型组; (c) AMPK $\beta$ 1 亚型组; (d) AMPK $\beta$ 2 亚型组; (e) AMPK $\gamma$ 1 亚型组; (f) AMPK $\gamma$ 2 亚型组; (g) AMPK $\gamma$ 3 亚型组。

Figure 6. Correlation of AMPK subunits with infiltration of various immune cells

图 6. AMPK 亚基与各种免疫细胞浸润的相关性

#### 4. 讨论

ccRCC 是肾细胞癌的一种侵袭性亚型,肾细胞癌占成人所有恶性肿瘤的 2%~3%。它在男性最常见的

癌症中排名第七,在女性中排名第九[9]。晚期 ccRCC 具有很高的死亡率,患者的长期治疗选择十分有限[10]。许多癌症的研究发现,控制肿瘤能量和生物合成的代谢途径发生了变化,同时得出了 ccRCC 是一种代谢性疾病的概念[11]。AMPK 在代谢途径、线粒体动力学以及表观遗传调控等方面都发挥着重要作用。这为可能用于治疗 ccRCC 的新的和重新用途的药物提供了方向。

本研究中,通过生物信息学分析发现 AMPK 亚基的表达量与 ccRCC 患者的病程、预后及免疫细胞方面存在相关性。AMPK 是一种含有  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  亚基的异源三聚体复合物,三种不同亚基的表达受到密切的调控,以保持它们在 AMPK 复合体形成过程中的水平平衡[12]。AMPK 亚基由位于不同染色体区域的不同基因编码,主要分布在细胞质中,而 AMPK $\alpha$ 2 和  $\beta$ 1 分别在细胞核和细胞膜中可以检测到,这可能解释了它们在 ccRCC 中独立的表达差异[13]。我们的数据为癌症发展过程中基因改变的复杂性提供了证据。

通过 TCGA 与 GTEx 数据库筛选出 ccRCC 患者四种临床分期中各个亚型的表达量,分析发现 ccRCC 的病程进展与 AMPK $\alpha$ 1, AMPK $\alpha$ 2, AMPK $\beta$ 1, AMPK $\beta$ 2 与 AMPK $\gamma$ 1 五种亚型的表达量相关。并且 AMPK $\alpha$ 1, AMPK $\alpha$ 2 在 I 期肿瘤中的表达量分别与 III、IV 期肿瘤均差异明显。提示 AMPK $\alpha$  的表达量可能对临床分期具有参考意义。通过在 Kaplan-Meier 生存曲线分析发现 AMPK $\alpha$ 1, AMPK $\alpha$ 2, AMPK $\beta$ 1, AMPK $\beta$ 2, AMPK $\gamma$ 1 与 AMPK $\gamma$ 2 六种亚型的表达与 ccRCC 患者的生存时间呈正相关。当下对 AMPK 亚单位在人类癌症中的功能作用的了解仍然有限。除了表达状态外,进一步研究 AMPK 亚基的功能也是必要的。

有报道说明 AMPK $\alpha$ 1 和 AMPK $\alpha$ 2 的失活加速了肺腺癌发生,并导致肿瘤减少 CD8/CD4 T 细胞浸润[14]。本研究中发现,AMPK $\alpha$ 1 与 AMPK $\gamma$ 1 的表达可能与 CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞浸润相关,从而在抑制 ccRCC 的发展、侵袭、转移的过程中发挥作用,这可能作为 ccRCC 免疫治疗新的研究方向。AMPK $\alpha$  可以通过调控自噬启动蛋白 1 (ULK1)激活自噬来有效抑制肝细胞癌细胞增殖[15]。在卵巢癌患者中 AMPK $\alpha$ 2 高表达且预后较好,AMPK $\alpha$ 2 低表达的肿瘤可能具有更强的侵袭性[13]。进一步证明了 AMPK $\alpha$  亚基的潜在功能。在不同的肿瘤可能具有不同的 AMPK 亚基的表达状态,但对于 AMPK 亚基如何在肿瘤免疫系统发挥作用的分子机制尚不清楚。AMPK 亚单位在各种人类癌症中的表达状况及其在肿瘤发生发展过程中的临床意义尚需进一步研究。

综上所述,本研究通过运用多种生物信息学的分析方法,对 AMPK 亚基在肾透明细胞癌中的表达进行了综合分析,我们认为 AMPK 亚基的表达量与 ccRCC 患者的病程、预后及免疫细胞方面存在相关性,并且各个亚基可能在 ccRCC 中独立发挥作用。进一步对 AMPK 亚基在 ccRCC 的分子机制功能研究将有助于新型临床药物的研发,靶向 AMPK 可能会为癌症的治疗开辟一条新的途径。

## 基金项目

国家自然科学基金项目(81703511); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2019MS08136); 内蒙古医科大学“致远人才”项目(ZY0130012); 内蒙古医科大学面上项目(YKD2021MS019)。

## 参考文献

- [1] Hsieh, J.J., Purdue, M.P., Signoretti, S., Swanton, C., Albiges, L., Schmidinger, M., Heng, D.Y., Larkin, J. and Ficarra, V. (2017) Renal Cell Carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, **3**, Article No. 17009. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.9>
- [2] Massari, F., Ciccicarese, C., Santoni, M., Brunelli, M., Piva, F., Modena, A., Bimbatti, D., Fantinel, E., Santini, D., Cheng, L., Cascinu, S., Montironi, R. and Tortora, G. (2015) Metabolic Alterations in Renal Cell Carcinoma. *Cancer Treatment Reviews*, **41**, 767-776. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.07.002>
- [3] Hsu, C.C., Peng, D., Cai, Z. and Lin, H.K. (2022) AMPK Signaling and Its Targeting in Cancer Progression and Treatment. *Seminars in Cancer Biology*, **85**, 52-68. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.04.006>

- [4] Yan, Y., Zhou, X.E., Xu, H.E. and Melcher, K. (2018) Structure and Physiological Regulation of AMPK. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article 3534. <https://doi.org/10.3390/ijms19113534>
- [5] Li, M., Verdijk, L.B., Sakamoto, K., Ely, B., van Loon, L.J. and Musi, N. (2012) Reduced AMPK-ACC and mTOR Signaling in Muscle from Older Men, and Effect of Resistance Exercise. *Mechanisms of Ageing and Development*, **133**, 655-664. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2012.09.001>
- [6] Yavari, A., Stocker, C.J., Ghaffari, S., Wargent, E.T., Steeples, V., Czibik, G., Pinter, K., Bellahcene, M., Woods, A., Martinez De Morentin, P.B., Cansell, C., Lam, B.Y., Chuster, A., Petkevicius, K., Nguyen-Tu, M.S., Martinez-Sanchez, A., Pullen, T.J., Oliver, P.L., Stockenhuber, A., Nguyen, C., Lazdam, M., O'Dowd, J.F., Harikumar, P., Toth, M., Beall, C., Kyriakou, T., Parnis, J., Sarma, D., Katritsis, G., Wortmann, D.D., Harper, A.R., Brown, L.A., Willows, R., Gandra, S., Poncio, V., de Oliveira Figueiredo, M.J., Qi, N.R., Peirson, S.N., McCrimmon, R.J., Gereben, B., Tretter, L., Fekete, C., Redwood, C., Yeo, G.S., Heisler, L.K., Rutter, G.A., Smith, M.A., Withers, D.J., Carling, D., Sternick, E.B., Arch, J.R., Cawthorne, M.A., Watkins, H. and Ashrafian, H. (2016) Chronic Activation of  $\gamma$ 2 AMPK Induces Obesity and Reduces  $\beta$  Cell Function. *Cell Metabolism*, **23**, 821-836. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.003>
- [7] Wang, Z.Y., Wang, N., Liu, P.X. and Xie, X. (2016) AMPK and Cancer. In: Cordero, M. and Viollet, B., Eds., *AMP-Activated Protein Kinase*, Springer, Cham, 203-226. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-43589-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-43589-3_9)
- [8] Ciccicarese, F., Zulato, E. and Indraccolo, S. (2019) LKB1/AMPK Pathway and Drug Response in Cancer: A Therapeutic Perspective. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2019**, Article ID: 8730816. <https://doi.org/10.1155/2019/8730816>
- [9] Charbonneau, M., Harper, K., Brochu-Gaudreau, K., Perreault, A., McDonald, P.P., Ekindi-Ndong, N., Jeldres, C. and Dubois, C.M. (2022) Establishment of a ccRCC Patient-Derived Chick Chorioallantoic Membrane Model for Drug Testing. *Frontiers in Medicine*, **9**. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.1003914>
- [10] Mendhiratta, N., Muraki, P., Sisk Jr., A.E. and Shuch, B. (2021) Papillary Renal Cell Carcinoma: Review. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, **39**, 327-337. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2021.04.013>
- [11] Wettersten, H.I., Aboud, O.A., Lara, P.J. and Weiss Jr., R.H. (2017) Metabolic Reprogramming in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Nature Reviews Nephrology*, **13**, 410-419. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.59>
- [12] Wang, Q., Liu, S., Zhai, A., Zhang, B. and Tian, G. (2018) AMPK-Mediated Regulation of Lipid Metabolism by Phosphorylation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **41**, 985-993. <https://doi.org/10.1248/bpb.b17-00724>
- [13] Li, C., Liu, V.W., Chiu, P.M., Chan, D.W. and Ngan, H.Y.S. (2012) Over-Expressions of AMPK Subunits in Ovarian Carcinomas with Significant Clinical Implications. *BMC Cancer*, **12**, Article No. 357. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-357>
- [14] Gao, Y., Paivinen, P., Tripathi, S., Chan, D.W. and Ngan, H.Y. (2022) Inactivation of AMPK Leads to Attenuation of Antigen Presentation and Immune Evasion in Lung Adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research*, **28**, 227-237. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-2049>
- [15] Wang, Y., Yi, Y., Yao, J., Wan, H., Yu, M., Ge, L., Zeng, X., Wu, M. and Mei, L. (2022) Isoginkgetin Synergizes with Doxorubicin for Robust Co-Delivery to Induce Autophagic Cell Death in Hepatocellular Carcinoma. *Acta Biomaterialia*, **153**, 518-528. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.09.035>