

综述

氨基酸调控肝脏糖脂代谢的作用与机制

蒋晓雪, 郭非凡*

中国科学院上海营养与健康研究所, 上海 200031

摘要: 氨基酸是人必需的营养物质, 具有广泛的生物学功能, 它是蛋白质的组成单位, 能量代谢物质。此外, 它还作为信号分子广泛参与对多种生理功能的维持与调控, 并在转录、翻译、翻译后修饰等多个层面上发挥作用。肝脏是关键的代谢器官, 它充当连接各种组织代谢的枢纽。氨基酸感应对肝脏糖脂代谢的调控中起到十分重要的作用。因此准确地感应细胞内和细胞外氨基酸的水平, 成为维持细胞内稳态的关键。真核细胞中存在一些众所周知的氨基酸感应因子, 即一般性调控阻遏蛋白激酶2 (general control non-derepressible-2, GCN2)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)以及味觉受体等, 在维持机体代谢稳态中发挥重要作用。本文对氨基酸调控肝脏糖脂代谢的作用与机制做了详细介绍, 为进一步探究氨基酸感应机制以及治疗肝脏糖脂代谢紊乱疾病奠定了基础。

关键词: 氨基酸; 肝脏; 代谢; GCN2; mTOR

中图分类号: R333.4; Q485; Q517

The role and mechanism of amino acids in regulating hepatic glucose and lipid metabolism

JIANG Xiao-Xue, GUO Fei-Fan*

Shanghai Institute of Nutrition and Health, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

Abstract: Amino acids are essential nutrients for humans and have a wide range of biological functions. They are the constituent units of protein and energy metabolites. In addition, they are also widely involved in the maintenance and regulation of various physiological functions, and play a role in transcription, translation, post-translational modification and other levels. The liver is a key metabolic organ, and it acts as a hub that connects the metabolism of various tissues. Amino acid sensing plays a very important role in the regulation of hepatic glucose and lipid metabolism. Therefore, accurately sensing the levels of intracellular and extracellular amino acids is the key to maintaining cell homeostasis. There are several well-known amino acid sensors in eukaryotic cells, such as general control non-derepressible-2 (GCN2), mammalian target of rapamycin (mTOR) and taste receptors, which play an important role in maintaining metabolic homeostasis. This article gives a detailed introduction to the role and mechanism of amino acids in regulating hepatic glucose and lipid metabolism, laying a foundation for further exploration of amino acid sensing mechanism and treatment of hepatic glucose and lipid metabolism disorders.

Key words: amino acid; liver; metabolism; GCN2; mTOR

Received 2020-11-12 Accepted 2021-03-11

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFA0800600), the National Natural Science Foundation of China (No. 91957207, 31830044, 81870592, 81770852, 81700761, 81700750, 81970742, 81970731, 81570777 and 81600623), Basic Research Project of Shanghai Science and Technology Commission (No. 16JC1404900, 17XD1404200) and CAS Interdisciplinary Innovation Team, Novo Nordisk-Chinese Academy of Sciences Research Fund (No. NNCAS-2008-10).

*Corresponding author. Tel: +86-21-54920945; E-mail: ffguo@sibs.ac.cn

氨基酸是氨基和羧基连在同一个碳原子上的化合物, 目前发现生物中存在的氨基酸有上百种。氨基酸分为蛋白质氨基酸和非蛋白质氨基酸两大类。非蛋白质氨基酸多为蛋白氨基酸的取代衍生物或类似物, 比如 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA), 是重要的神经递质, 它们结构各异并且种类繁多, 在生理过程中起到重要的作用。而蛋白质氨基酸也就是常见氨基酸, 目前有 20 种, 对脊椎动物而言, 有 9 种氨基酸自身无法从头合成, 必须通过摄取蛋白来获取, 这些氨基酸被称为必需氨基酸。必需氨基酸包括亮氨酸、色氨酸、赖氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸和组氨酸。它们在机体内分别发挥着重要的功能, 对生物的生长发育和代谢调控起到十分重要的作用。亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸均属于支链氨基酸, 随着人们对氨基酸的研究日益深入, 对支链氨基酸的作用认识更加全面。研究表明支链氨基酸不仅能促进机体糖异生, 使葡萄糖合成不断增加, 同时还能加快合成蛋白质, 减弱疲劳^[1,2]。氨基酸能够参与癌症的增殖^[3], 还参与调控机体的能量稳态以及脂质代谢^[4,5]。此外它们还能参与机体的糖脂代谢和免疫等^[6-8]。因此研究氨基酸对糖脂代谢的调控机制, 将为防治代谢性疾病奠定良好的基础。本综述集中从氨基酸感应以及氨基酸功能来介绍氨基酸在调控肝脏糖脂代谢中的作用与机制。

1 氨基酸感应

1.1 细胞质氨基酸感应

近年来, 氨基酸作为信号分子调控机体多种生理过程受到了越来越多的关注^[9]。氨基酸不仅能够作为蛋白质的主要组成部分, 也可以作为机体的备用能源^[10]。在细胞内, 蛋白质合成过程是最需要能量的过程之一, 因此有效地感应氨基酸并触发适当的反应成为维持细胞内稳态的关键^[11]。真核细胞中存在一些众所周知的氨基酸感应因子, 例如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR), 当氨基酸充足时会激活 mTOR, 从而为生长启动合成代谢。相反当机体内某种必需或者非必需氨基酸缺乏时, 一般性调控阻遏蛋白激酶 2 (general control non-derepressible-2, GCN2) 能够通过结合相应的 tRNA 感应这些氨基酸^[12]。此外, 体外的氨基酸感应主要是通过味觉受体来感知。

在蛋白质合成中, 没有氨基酸能够补偿另一个

氨基酸的缺失, 因此, 细胞必须能有效地检测任何氨基酸的缺乏, 以防止肽链合成中的潜在故障。蛋白质合成的基本元件核糖体, 能够通过将同源氨基酸与其顺序结合的特定 tRNA 共价连接, 从而使氨基酸并入新生肽链中。特定氨基酸的氨基酰-tRNA 合成酶能够促进氨基酸与其同源 tRNA 的结合^[13], 当细胞中自由的氨基酸水平很低时, 未装载的 tRNA 就会聚集。GCN2 能够检测到任何氨基酸对应的未装载的 tRNA, 并对它有很高的亲和力^[14]。当 GCN2 与未装载的 tRNA 结合后, 会产生构象变化, 从而激活能够抑制蛋白质翻译起始的真核起始因子 2 α (eukaryotic initiation factor 2 α , EIF2 α)^[15]。EIF2 α 激活后会促进一些转录因子的表达比如 ATF4 等。之后 ATF4 会促进一些参与氨基酸代谢的氨基酸转运体以及酶的表达^[16-18], 此外还会促进参与自噬的一些因子的表达, 从而适应机体的氨基酸缺乏^[19]。

氨基酸能够为生长提供原料, 必要时还会提供能量, 机体需要有效地感应氨基酸水平的变化, 才能为生长提供保障, 氨基酸的感应机制见图 1。真核细胞中 mTOR 信号通路是氨基酸良好的感应因子, 它能够促进蛋白质、脂类以及核苷酸等的合成代谢, 并且抑制类似自噬等分解代谢的发生。1994 年哺乳动物细胞中的 TOR 被发现^[20-22]。TOR 会形成两种结构以及功能不同的复合物, 即 mTORC1 和 mTORC2。mTOR 是细胞生长和代谢的主要调控因子。在哺乳动物中, 生长因子和细胞能量通过抑制 mTORC1 的负调节剂 TSC 复合物 (TSC1-TSC2-TBC1D7) 刺激 mTORC1 的活性。而氨基酸能够独立于 TSC 复合物将信号通过氨基酸感应因子传递给 mTORC1^[23]。近期的研究发现细胞质中的蛋白 SESTRIN2 可以直接在体外结合亮氨酸, 将 SESTRIN2 与亮氨酸的结合部位突变后, 亮氨酸刺激就不能激活 mTORC1。亮氨酸、异亮氨酸以及甲硫氨酸都能在体内、体外破坏 SESTRIN2 与 GATOR2 结合。当亮氨酸缺乏时, SESTRIN2 结合并抑制 GATOR2。当亮氨酸刺激时 SESTRIN2 从 GATOR2 上解离下来, 从而使 mTORC1 被转运到溶酶体上^[24]。另外 Durán 等发现在哺乳动物细胞中, 亮氨酸和谷氨酰胺能够通过谷氨酰胺分解产生的 α -酮戊二酸来激活 RAG-mTORC1^[25]。最近的研究结果发现 CASTOR1 同源二聚体或者 CASTOR1-CASTOR2 的异源二聚体能够在体外直接和精氨酸相互结合。精氨酸与 CASTOR1 二聚体结合后, 可能使 CASTOR2

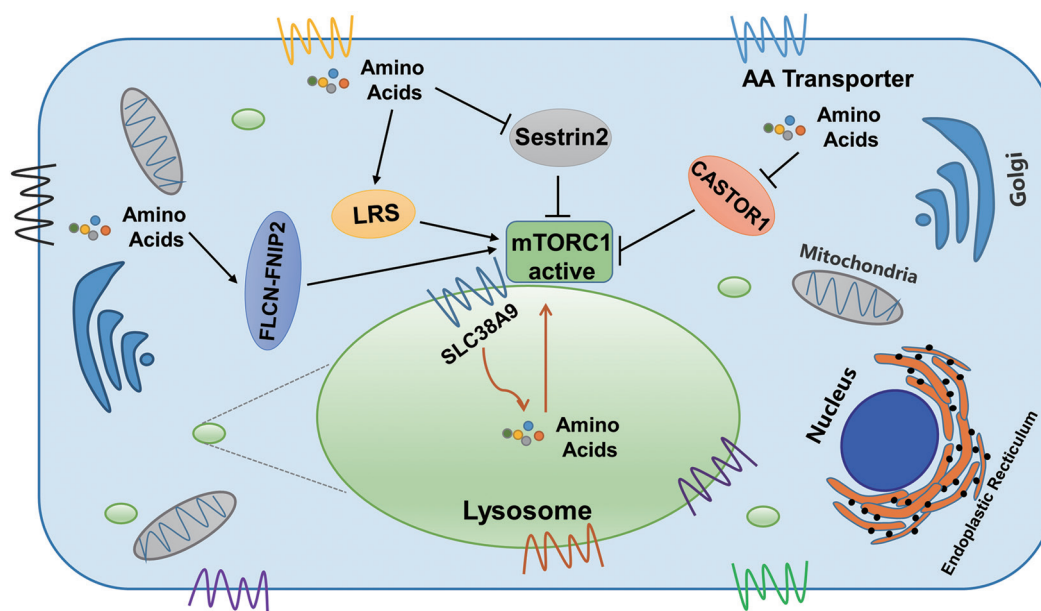


图 1. 氨基酸感应

Fig. 1. Amino acid sensing. Amino acid sensors such as SESTRIN2, LRS, CASTOR1 or FLCN-FNIP2 sensing specific amino acid inputs to recruit and activate mTORC1. LRS: Leucyl-tRNA synthetases; CASTOR1: cytosolic arginine sensor for mTORC1 subunit 1; FLCN-FNIP2: folliculin-folliculin interacting protein 2; mTORC1: mammalian target of rapamycin complex-1.

释放出来，从而抑制 CASTOR1 激活 mTORC1。此外 Chantranupong 等人报道，精氨酸可以与生长因子合作，抑制溶酶体 TSC2 和 Rheb 之间的相互作用，从而激活 mTORC1^[26]。FLCN 是一种肿瘤抑制复合体，能够与它的结合伴侣 FNIP 结合后，作为 RAGC 和 RAGD 的 GAP，从而激活 mTORC1 的信号通路^[27]。

1.2 溶酶体氨基酸感应

近年来，溶酶体在营养传感、转录调控和代谢稳态方面的新作用极大地扩展了人们对溶酶体的固有认识，这些发现将溶酶体提升至调控细胞生长和存活的中心位置。最初研究者们认为氨基酸感应存在于细胞膜上，因而细胞膜上的氨基酸转运体由于能将氨基酸从细胞膜外转运至细胞内，故而认为其在氨基酸感应中起到重要作用^[28, 29]。然而蛋白质合成阻断剂能够通过增加细胞质中游离氨基酸，恢复已剥夺氨基酸的细胞中的 mTORC1 信号传导^[28]，这一证据有力地表明氨基酸传感起源于细胞内。

与酵母中的液泡相似，溶酶体似乎在其腔内积累了大量的氨基酸。胱氨酸贮积症是一种常染色体隐性遗传的疾病，早在 1982 年就已科学家发现它是由溶酶体胱氨酸转运的缺陷，从而导致溶酶体内胱氨酸在所有身体细胞和器官中积累，对人的生命造成了极大的威胁。因此溶酶体内的氨基酸平衡

对维持机体健康起到至关重要的作用。且由于溶酶体膜上存在受氨基酸调节的 mTORC1 的分子机制，这表明氨基酸的感应发生在十分接近溶酶体的位置^[30-32]。在纯化的溶酶体内特异性增加氨基酸可以促进 mTORC1 与 Rag GTPases 的结合，进而激活 mTORC1。相反在体外和细胞中防止溶酶体内氨基酸积累，会阻止 mTORC1 在溶酶体表面锚定^[32]。这进一步说明氨基酸感应可能发生在溶酶体内。这些结果与 mTORC1 的氨基酸传感模型一致，在该模型中，氨基酸在溶酶体腔内积累后以由内而外的方式将信号传递到溶酶体表面的 Rag GTPases^[32-35]。通过对果蝇 S2 细胞的 RNAi 筛选发现，v-ATPase、Rag GTPases 和 Ragulator 是溶酶体氨基酸感应机制的组成部分^[32]。v-ATPase 与 Ragulator 和 Rag GTPases 形成超复合物后，其催化活性是 mTORC1 招募响应氨基酸的关键^[32, 36]。虽然 v-ATPase 在氨基酸传感中的确切机制仍有待阐明，但 v-ATPase 的组装或活性可能受氨基酸的调节^[37]。

在 20 种常见氨基酸中，亮氨酸和精氨酸是 mTORC1 的关键因子^[38, 39]。SLC38A9 被认为是溶酶体膜上钠耦联的氨基酸转运体，它通过结合 Ragulator 和 RAGs 来激活 mTORC1，在细胞中敲减 SLC38A9 后会抑制精氨酸诱导 mTORC1 的激活^[33-35]。生化

分析表明 SLC38A9 与 v-ATPase 分别是 Rag GTPases 和 Ragulator 的上游, 在重组脂质体的氨基酸转运实验中, SLC38A9 能够转运精氨酸, 尽管与其他氨基酸转运蛋白相比, 其亲和力相对较低。且过表达 SLC38A9 的 N 端胞质结构域就足以使 mTORC1 信号通路抵抗氨基酸的缺乏^[33–35], 表明该结构域是氨基酸转运功能的下游。因此 SLC38A9 可能作为一个收发器, 通过将精氨酸转运到溶酶体膜上, 向 mTORC1 传递激活信号。此外, SLC38A9 与 v-ATPase 之间的功能关系尚不清楚。删除 SLC38A9 可以减少 mTORC1 底物的磷酸化, 但不能减少其在溶酶体上的定位^[33, 34]。mTORC1 活化过程还涉及到其他溶酶体氨基酸转运蛋白, 包括组氨酸转运蛋白 SLC15A4 以及质子辅助氨基酸转运蛋白 1 即 SLC36A1^[40, 41]。谷氨酰胺是人体中最丰富的游离氨基酸, 为细胞生长提供了碳和氮源。研究表明谷氨酰胺和谷氨酰胺衍生的代谢产物似乎作为 Rag GTPase 的同源物即 Gtr1 和 2 的上游起作用^[25, 42, 43]。但是也有研究者发现在酵母和 RAGA/B 缺失的细胞中, 谷氨酰胺可以通过 Rag GTPase 非依赖的机制刺激溶酶体易位并激活 mTORC1^[37, 44]。有趣的是, 谷氨酰胺刺激 mTORC1 的场所必须在溶酶体上, 此过程不需要 Ragulator, 但仍然依赖于 v-ATPase 的活性, 这表明谷氨酰胺的感应也发生在溶酶体的附近。

越来越多的研究者开始关注溶酶体内氨基酸稳态在调控机体生理过程中的重要作用, 但是由于整个细胞的氨基酸及代谢物的分析不能捕捉到溶酶体内氨基酸及代谢物的动态变化, 为了更好地了解溶酶体的功能, 需要揭示在不同细胞状态下溶酶体内氨基酸及代谢的含量和动态变化。此外胞浆中的氨基酸与溶酶体腔内的氨基酸之间的关系, 以及与介导亚细胞区室之间氨基酸交换的溶酶体氨基酸转运蛋白之间的关系鲜为人知。细胞内细胞器的代谢物组学分析在技术上具有挑战性, 因为分离方法必须既快速又具有特异性。纯化溶酶体的标准方法可能要花费数小时才能完成。此外现有的能够加速分离程序的方法提取的纯度可能很差, 导致代谢提取物中不仅含有线粒体代谢产物, 而且还含有少量其他细胞器。因此, 对溶酶体代谢含量的检测需要一种既快速又特异性的方法。随着科学技术的不断更新, 研究者利用 LysoIP 技术即使用高亲和力磁免疫捕获柱子从匀浆的哺乳动物细胞中快速纯化 HA 标记的溶酶体^[45, 46]。之

后利用液相色谱和质谱鉴定代谢物。此提取方法仅需 12 min, 简单快速, 又能保证溶酶体的活性以及完整性, 大大提高了研究效率。

从体外实验获得的结果表明氨基酸信号应该开始于溶酶体内腔。SLC38A9 已被证明是溶酶体膜上的精氨酸感应因子, 能够将激活信号直接传递给 mTORC1, 由于与转运体的结构相似, 猜测 SLC38A9 可能通过调节溶酶体氨基酸水平来发挥作用, 但目前它是通过感应细胞质氨基酸还是溶酶体内的氨基酸来发挥作用还不清楚。研究者使用溶酶体代谢物组学分析, 发现 SLC38A9 在维持氨基酸稳态中具有令人惊讶的重要作用, 并且 SLC38A9 及其转运功能是细胞增殖和胰腺肿瘤生长所必需的。SLC38A9 能以精氨酸调节方式将大多数必需氨基酸转运出溶酶体, 包括亮氨酸^[46]。虽然 SLC38A9 的缺失对全细胞氨基酸水平没有影响, 但它能显著提高包括亮氨酸在内的几种氨基酸在溶酶体内的浓度。过表达野生型 SLC38A9 具有相反的效果, 降低了 SLC38A9 缺失导致的溶酶体内增加的氨基酸浓度, 这充分说明 SLC38A9 能够调控溶酶体内氨基酸稳态^[46]。有趣的是, 虽然人们已经认识到必须存在一个溶酶体蛋白将亮氨酸从溶酶体内运出^[47, 48], 却一直没有发现这样的转运蛋白。而由于 SLC38A9 缺失能够导致亮氨酸和其他氨基酸在溶酶体中积累, 暗示 SLC38A9 可能参与这些氨基酸的转运, 因此通过改进的 SLC38A9 转运试验, 发现 SLC38A9 是亮氨酸的高亲和力转运蛋白^[46]。且 SLC38A9 的缺失会极大地损害了细胞在氨基酸饥饿中存活的能力, 并削弱了 GCN2 通路在长期饥饿状态下恢复至基线水平的能力^[46]。此外研究者还发现 V-ATPase 和 mTORC1 也能够调控溶酶体内的氨基酸稳态, 通过抑制 V-ATPase 能够增加溶酶体内除大多数必需氨基酸以外的代谢物浓度, 而通过抑制 mTOR 能够明显减少溶酶体内大多数必需氨基酸的外流, 这些结果揭示了溶酶体代谢物的动态特性和溶酶体氨基酸外流的调控机制^[49]。此外 SLC38A7 被发现是溶酶体上负责将谷氨酰胺转运出去的蛋白^[50]。最近的研究还发现 DRAM-1 能够驱动氨基酸流出溶酶体, 促进 mTORC1 的激活。DRAM-1 和 SCAMP3 能够直接将新合成的氨基酸转运体安置到溶酶体上, 并且 DRAM-1 的丢失能够增加胰岛素敏感性, 增强脂肪细胞的分化。这些证据进一步说明了溶酶体氨基酸稳态对于维持机体生理活动平衡的重要性^[51]。

2 氨基酸调控肝脏糖脂代谢的作用与机制

2.1 氨基酸调控肝脏糖代谢

2 型糖尿病的流行是全球发病率节节攀升的主要原因之一。1921 年胰岛素的发现在生物界引起了广泛关注，胰岛素在降低血糖上的重要作用开始被人熟知，由此产生了大量关于胰岛素作用和抵抗的研究，这对于持续开发有效的治疗策略来对抗 2 型糖尿病至关重要。肝脏是关键代谢器官，并控制人体能量代谢。它充当连接各种组织（包括骨骼肌和脂肪组织）代谢的枢纽，在调控机体胰岛素敏感性和糖异生方面发挥重要作用。氨基酸不仅是构成蛋白质的基本单元，还能作为信号分子参与生理过程，如图 2 所示，氨基酸在机体糖代谢的调控中起到了重要的作用。氨基酸已被证明可以刺激蛋白质合成，抑制蛋白质分解。

越来越多的研究者开始关注氨基酸对血糖的调控，早有研究发现餐后氨基酸水平升高能够明显促进肝脏的糖异生作用，刺激胰岛素和胰高血糖素的分泌^[52]。为了研究血液中的代谢物是否可以预测糖尿病的发展，研究者通过高通量分析 2 422 例人血液样本的代谢物组学，其中有 201 例患有糖尿病，发现糖尿病的发生与异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的含量成正相关。这些发现强调了氨基酸代谢在糖尿病发病早期潜在的关键作用，

并表明氨基酸稳态在预测糖尿病风险中起到重要作用^[53]。近年来，通过饮食控制微量营养素来治疗胰岛素抵抗引起了越来越多的关注。必需氨基酸是人体自身无法合成的，因此必需氨基酸缺乏或过量时对于机体维持糖稳态的平衡起到重要作用。研究者发现在饮食中添加亮氨酸可以通过多种机制减少饮食引起的肥胖，并且改善小鼠的葡萄糖和胆固醇代谢^[54]。但亮氨酸对于血糖的调控是存在争议的，研究者通过比较肥胖者和瘦人的代谢物组学，揭示了支链氨基酸有助于肥胖相关的胰岛素抵抗的发展^[55]。但在支链氨基酸缺乏时，结论是明确的，即缺乏亮氨酸可以通过激活 GCN2 抑制 mTORC1/S6K1 信号通路或者激活 AMPK 信号通路促进胰岛素信号通路从而改善肝脏的胰岛素敏感性^[8]。通过利用培养的肝癌细胞，发现氨基酸在胰岛素靶组织中起到信号分子的作用。当细胞暴露于高生理浓度的氨基酸时，不仅激活了蛋白质合成起始阶段的重要中间体，包括与胰岛素协同作用的 p70 S6 激酶和 PHAS-I，同时还抑制了胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate 1, IRS1) 和 2 (IRS2) 的磷酸化以及 PI3K。这种刺激作用主要是由于支链氨基酸，特别是亮氨酸^[56]。此外在 2 型糖尿病的发展中，受损的亮氨酸分解代谢先于缬氨酸和异亮氨酸的分解代谢。这种代谢模式对监测 2 型糖尿病风险有重要作用，并加深了对 2

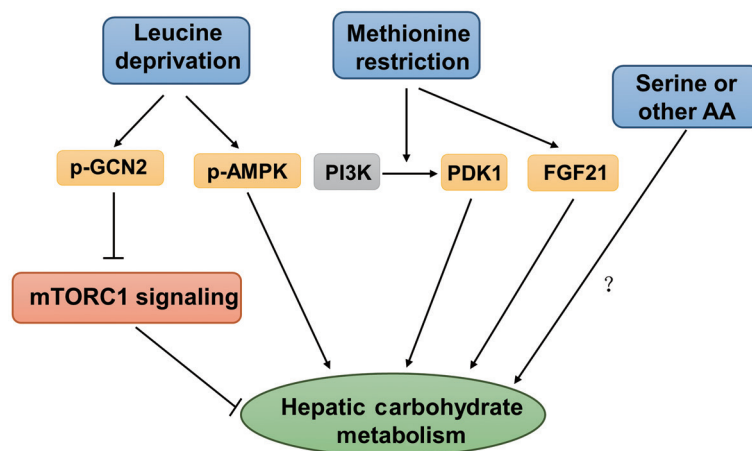


图 2 氨基酸调控肝脏糖代谢

Fig. 2. Amino acids regulate hepatic glucose metabolism. Leucine deprivation can inhibit the mTORC1/S6K1 signaling pathway by activating GCN2 or activate the AMPK signaling pathway to promote the insulin signaling pathway, thereby improving liver glucose metabolism. Methionine restriction can directly promote the insulin signaling pathway or increase the level of FGF21 in liver to regulate hepatic glucose metabolism. The mechanism by which other amino acids regulate hepatic glucose metabolism is still unclear. GCN2: general control non-derepressible-2; AMPK: AMP-activated protein kinase; PI3K: phosphatidylinositol 3 kinase; PDK1: 3-phosphoinositide dependent kinase-1; FGF21: fibroblast growth factor 21; AA: amino acid.

型糖尿病的病理生理学的认识^[57]。除了支链氨基酸,其他必需氨基酸对调控糖代谢也有十分重要的作用。甲硫氨酸限制因其对寿命、抗应激性、代谢适应性和抗氧化功能的有益影响而备受关注。甲硫氨酸与机体糖代谢也息息相关,胰岛素抵抗性疾病和糖尿病患者血液循环中的甲硫氨酸及其分解代谢衍生物半胱氨酸显著增加,而血液甲硫氨酸丰度的差异能够追踪胰岛素抵抗,为预测患糖尿病的风险提供依据^[58]。在不同的实验模型中,甲硫氨酸限制饮食可以改善葡萄糖耐量和胰岛素敏感性。甲硫氨酸限制饮食(0.12% 甲硫氨酸)的 C57BL/6J 小鼠在饮食诱导的肥胖中对葡萄糖和胰岛素更有抵抗力,其作用与成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 水平的升高有关^[59]。在容易发展成 2 型糖尿病的模式中,甲硫氨酸限制饮食增强了肝脏中 AKT 信号,促进了糖原合成。研究表明甲硫氨酸限制饮食能够提高整体的胰岛素敏感性,主要是通过抑制肝脏葡萄糖生成,增强肝脏 AKT 的磷酸化,并使肝脏中的 FGF21 增加了四倍^[60]。

此外,除了必需氨基酸,其他非必需氨基酸对胰岛素敏感性的调控也有重要的作用。*L*-丝氨酸作为一种极性氨基酸,在 1865 年首次被克莱默发现,在广泛的细胞过程中是不可或缺的,并且起到中心调控作用,它被归类于非必需氨基酸,然而,人们很快发现脊椎动物在某些情况下无法合成足够的丝氨酸来满足细胞的需求^[61, 62]。因此,即使是健康人,从饮食中摄入 *L*-丝氨酸也是必要的。我们从饮食中摄入的 *L*-丝氨酸分布在许多类型的食物中,其中对 *L*-丝氨酸贡献最大的是富含 *L*-丝氨酸的食物,如鸡蛋、大豆、奶酪和坚果。研究发现 2 型糖尿病患者和妊娠期糖尿病患者血清中的 *L*-丝氨酸水平都明显降低^[63, 64],最近的一项研究对芬兰小镇库奥皮奥的 5 181 名 45~73 岁之间的非糖尿病男性的氨基酸浓度与 2 型糖尿病的发展进行了研究,发现高 *L*-丝氨酸浓度与改善的胰岛素分泌和敏感性相关^[65]。Holm 等给予非肥胖导致的糖尿病 (non-obese diabetes, NOD) 小鼠补充 *L*-丝氨酸,发现小鼠的血糖显著降低,糖耐性显著提高,胰岛素抵抗指数 HOMA-IR 显著降低。这表明 *L*-丝氨酸可以用作治疗 1 型糖尿病的补充剂,并改善血糖稳态,但相关的机制还不清楚^[66]。

2.2 氨基酸调控肝脏脂代谢

近年来脂肪肝的发病率升高,已经成为全球亟

待解决的健康问题之一。肝脏的脂代谢主要分为四个过程,分别为脂质合成、脂质氧化、脂质吸收以及脂质分解。而氨基酸和肝脏脂代谢也有着密切的关系,如图 3 所示,不同的氨基酸能够通过信号传导影响肝脏脂代谢的不同过程。

氨基酸缺乏能够调控肝脏脂代谢。研究发现氨基酸缺乏的代谢适应协调调节,不仅影响蛋白质的生物合成途径,而且影响脂质代谢。GCN2 作为细胞对氨基酸饥饿感应的关键因子,通过与不带电荷的 tRNA 结合而被激活,从而确保所有氨基酸均可用于维持细胞的生长和功能。肥胖往往会导致脂肪肝的发生。许多研究报道肥胖患者的支链氨基酸水平显著升高^[67, 68]。支链氨基酸是必需氨基酸,它们在体内无法从头合成。有证据表明肥胖者的支链氨基酸水平升高,部分是由肝脏和脂肪组织支链氨基酸分解代谢率较低导致的。我们的前期研究发现给予小鼠 7 天的亮氨酸缺乏饮食后,小鼠肝脏中的脂肪合酶的活性受到明显的抑制。相比之下,GCN2 敲除的小鼠出现显著的肝脏脂肪变性,并表现出脂

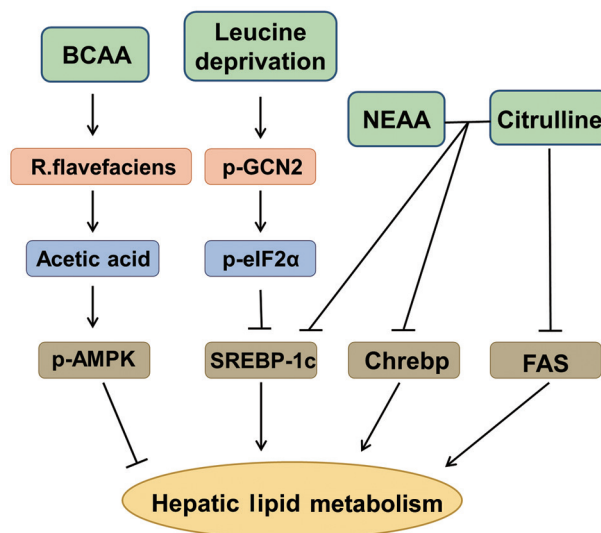


图 3. 氨基酸调控肝脏脂代谢

Fig. 3. Amino acids regulate hepatic lipid metabolism. BCAA supplementation, leucine deficiency, and NEAA supplementation can regulate lipid metabolism in different ways. BCAA: branched chain amino acid; NEAA: non-essential amino acids; AMPK: AMP-activated protein kinase; GCN2: general control non-derepressible-2; p-eIF2α: phosphorylated α subunit of eukaryotic initiation factor 2; SREBP-1c: sterol regulatory element binding protein-1c; Chrebp: carbohydrate responsive element binding protein; FAS: fatty acid synthase.

质动员减少,进一步的研究发现这是由 *Srebp-1c* 和 *Fas* 等脂肪生成基因未受抑制的表达所致^[69]。由此可见氨基酸缺乏在调控肝脏脂代谢中发挥着至关重要的作用。氨基酸补充也能够调控肝脏脂代谢。支链氨基酸在脂肪肝调控作用中的研究受到广泛关注,但也十分矛盾。高脂饮食诱导的肥胖小鼠给予支链氨基酸补充,能够降低白脂的积累,同时还可以降低肝脏以及肌肉中甘油三酯的含量。此外单独给予肥胖小鼠异亮氨酸的补充,也可以降低白脂的积累和肝脏以及肌肉中甘油三酯的含量^[70]。亮氨酸的缺乏可以明显降低肝脏中的脂质合成,但也有研究发现支链氨基酸能够改变肝脏的脂质稳态,补充支链氨基酸通过增强肝脏中 PPAR- α 和解耦联蛋白的表达,以及改变肠道菌群介导的乙酸的水平,从而改善高脂诱导的脂肪肝^[71,72]。

除了支链氨基酸,研究表明芳香族氨基酸 (aromatic amino acids, AAA) 与肝脏脂肪的早期积累相关,而与性别、肥胖或胰岛素抵抗无关^[73]。这些都说明了氨基酸的稳态变化与脂肪肝的形成息息相关。研究者发现血浆酪氨酸水平与肝脏脂肪变性的严重程度呈正相关,且在非酒精性脂肪性肝病 (non-alcohol fatty liver disease, NAFLD) 中有几种主要的氨基酸途径失调,其中酪氨酸代谢受到的影响最大^[74]。除此之外,氨基酸的衍生物与肝脏的脂代谢也息息相关,代谢组学分析显示患有 NAFLD 的受试者中的糖胆酸、牛磺胆酸和糖去氧胆酸水平显著升高。并且非酒精性脂肪性肝炎和脂肪变性的人群中,谷氨酰二肽、谷氨酰缬氨酸、谷氨酰亮氨酸、谷氨酰苯丙氨酸和谷氨酰酪氨酸显著升高^[74]。研究表明给予果糖诱导的非酒精性脂肪肝大鼠模型瓜氨酸的补充,能够抑制大鼠肝脏中 *Srebp1c* 和 *Chrebp* 的表达,恢复 PPAR α 的表达,从而缓解大鼠的脂肪肝^[75]。这些研究结果都说明氨基酸稳态以及氨基酸代谢在调控肝脏脂代谢过程中发挥着十分重要的作用。

3 总结与展望

糖尿病和脂肪肝是十分复杂的疾病,遗传、环境和代谢风险因素相互关联促进了肝脏糖脂代谢紊乱疾病的发展。糖尿病和脂肪肝发病率节节攀升的主要原因在于随着经济和科技的发展,人们饮食习惯以及生活方式发生了巨大变化。足不出户就可以享受到各类美食,这不仅使人们得不到适量的运动,

还由于各种高能量食物的摄入导致营养过剩。适当的饮食有助于控制糖尿病,尤其是因为胰岛素抵抗与体重成反比,2型糖尿病患者开始减肥后其胰岛素抵抗会得到改善^[76]。此外,饮食应因人而异,例如非肥胖糖尿病患者每天应摄取的热量在 1 500~2 500 kcal 之间,但是肥胖糖尿病患者应摄取的热量为每天 800~1 500 kcal,而体重不足的糖尿病患者每天摄取的热量应超过 2 500 kcal^[77]。饮食中所含食物的质量和数量应根据年龄、糖尿病的类型、体重状况、性别或职业来考虑和选择^[78]。强烈建议设置健康饮食,以最大程度地降低糖尿病患者发生严重并发症的风险^[79]。

营养过剩不仅是由于摄入脂肪过多,通常摄入蛋白质也是过多的。由于蛋白质由氨基酸组成,近年来,人们对于氨基酸在糖脂代谢及胰岛素反应方面的调节作用已经有所认识与研究。近年来研究表明氨基酸的水平与糖尿病和脂肪肝的发生息息相关,有研究报道糖尿病患者血清中的苯丙氨酸、酪氨酸以及支链氨基酸的含量显著升高^[80],这为糖尿病的诊断和治疗奠定了基础。此外早就有研究报道肥胖人群的血清中氨基酸含量显著升高^[55],这暗示了氨基酸可能参与肥胖人群或饮食诱导的肝脏脂肪变性过程。氨基酸不仅可以作为重要营养元素发挥作用,还可以作为糖脂代谢调控中的重要信号分子发挥着重要作用。因此饮食干预可以作为降低高危人群罹患脂肪肝和 2 型糖尿病风险的有效手段。

机体通过咀嚼食物开启降解蛋白的第一步。之后进入胃,在盐酸以及胃蛋白酶的作用下进行蛋白降解的第二步。被降解形成的多肽紧接着进入了小肠,在降解酶的作用下进一步降解。之后多肽进入黏膜细胞进一步降解形成了游离的氨基酸。氨基酸穿过黏膜细胞后进入血管,并被运到肝脏组织,最后由肝脏将这些氨基酸分配到机体的各个组织。然而当氨基酸进入不同组织后,氨基酸代谢各不相同。例如给予大鼠亮氨酸的喂养,发现脂肪组织、肝脏和骨骼肌中的蛋白质合成速率增加,但心脏或肾脏中则并未增加^[81]。此外支链氨基酸的降解主要通过支链氨基酸转氨酶 (branched chain amino acid transaminase, BCAT) 和支链 α -酮酸脱氢酶 (branched-chain α -ketoacid dehydrogenase, BCKD) 等代谢酶,研究发现在人的各个组织中,肌肉中的 BCAT 活性最高,占到机体总 BCAT 活性的一半以上,之后依次是脂肪、肝脏、肠、肾和心脏^[82]。但也有研究报道在成

年大鼠肝脏中未发现 BCAT 的表达,在脂肪、肾脏、心脏均表达较高^[81]。在人的各个组织中,肌肉中的 BCKD 的活性最高,占到机体总 BCKD 活性的一半左右,之后依次是脂肪、脑、肝脏、肾和肠^[82]。这说明肌肉是支链氨基酸最主要的代谢组织。氨基酸感应能够有效地调控机体的糖脂代谢。氨基酸感应在不同的组织中并无特异性。真核细胞中存在众所周知的氨基酸感应因子,例如 mTOR,当氨基酸充足时会激活 mTOR,从而为生长来启动合成代谢。相反,当机体内某种必需或者非必需氨基酸缺乏时,GCN2 通过与其相对应的 tRNA 结合能够直接感应它们。此外,体外的氨基酸感应主要是通过味觉受体来感知。

氨基酸感应调控机体稳态中发挥了重要的作用,但除了已报道的氨基酸感应因子,其他的氨基酸是否存在对应的氨基酸感应因子,以及氨基酸感应因子如何调控糖脂代谢,目前的研究都还不清楚。氨基酸缺乏的感受器到现在为止仅仅发现了 GCN2,生物体内是否存在其他的氨基酸缺乏感受器还未知。此外氨基酸是否可以通过氨基酸代谢产物起作用,并且这些代谢物如何发挥作用还需要我们进一步的探索。营养素感应与代谢调控信号网络的紊乱和失调是促发慢性代谢性疾病的根本病因。目前针对糖尿病和脂肪肝的大多数疗法缺乏明确的分子靶标或缺乏详细的疾病发病机理。因此研究氨基酸的营养感应和其对糖脂代谢的调控机制,将为防治糖尿病和其他相关代谢性疾病奠定良好的基础。

参考文献

- 1 Zhao H, Zhang F, Sun D, Wang X, Zhang X, Zhang J, Yan F, Huang C, Xie H, Lin C, Liu Y, Fan M, Yan W, Chen Y, Lian K, Li Y, Zhang L, Wang S, Tao L. Branched-chain amino acids exacerbate obesity-related hepatic glucose and lipid metabolic disorders via attenuating Akt2 signaling. *Diabetes* 2020; 69(6): 1164–1177.
- 2 Gervasi M, Sisti D, Amatori S, Donati Zeppa S, Annibali G, Piccoli G, Vallorani L, Benelli P, Rocchi MBL, Barbieri E, Calavalle AR, Agostini D, Fimognari C, Stocchi V, Sestili P. Effects of a commercially available branched-chain amino acid-alanine-carbohydrate-based sports supplement on perceived exertion and performance in high intensity endurance cycling tests. *J Int Soc Sports Nutr* 2020; 17(1): 6.
- 3 Xiao F, Wang C, Yin H, Yu J, Chen S, Fang J, Guo F. Leucine deprivation inhibits proliferation and induces apoptosis of human breast cancer cells via fatty acid synthase. *Oncotarget* 2016; 7(39): 63679–63689.
- 4 Du Y, Meng Q, Zhang Q, Guo F. Isoleucine or valine deprivation stimulates fat loss via increasing energy expenditure and regulating lipid metabolism in WAT. *Amino Acids* 2012; 43(2): 725–734.
- 5 Yuan F, Jiang H, Yin H, Jiang X, Jiao F, Chen S, Ying H, Chen Y, Zhai Q, Guo F. Activation of GCN2/ATF4 signals in amygdalar PKC- δ neurons promotes WAT browning under leucine deprivation. *Nat Commun* 2020; 11(1): 2847.
- 6 Moura CS, Lollo PCB, Morato PN, Risso EM, Amaya-Farfan J. Modulatory effects of arginine, glutamine and branched-chain amino acids on heat shock proteins, immunity and antioxidant response in exercised rats. *Food Funct* 2017; 8(9): 3228–3238.
- 7 Hu X, Deng J, Yu T, Chen S, Ge Y, Zhou Z, Guo Y, Ying H, Zhai Q, Chen Y, Yuan F, Niu Y, Shu W, Chen H, Ma C, Liu Z, Guo F. ATF4 deficiency promotes intestinal inflammation in mice by reducing uptake of glutamine and expression of antimicrobial peptides. *Gastroenterology* 2019; 156(4): 1098–1111.
- 8 Xiao F, Huang Z, Li H, Yu J, Wang C, Chen S, Meng Q, Cheng Y, Gao X, Li J, Liu Y, Guo F. Leucine deprivation increases hepatic insulin sensitivity via GCN2/mTOR/S6K1 and AMPK pathways. *Diabetes* 2011; 60(3): 746–756.
- 9 Nair KS, Short KR. Hormonal and signaling role of branched-chain amino acids. *J Nutr* 2005; 135(6 Suppl): 1547s–1552s.
- 10 Wu G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. *J Anim Sci Biotechnol* 2014; 5(1): 34.
- 11 Jewett MC, Miller ML, Chen Y, Swartz JR. Continued protein synthesis at low [ATP] and [GTP] enables cell adaptation during energy limitation. *J Bacteriol* 2009; 191(3): 1083–1091.
- 12 Wek RC, Jiang HY, Anthony TG. Coping with stress: eIF2 kinases and translational control. *Biochem Soc Trans* 2006; 34(Pt 1): 7–11.
- 13 Ibba M, Soll D. Aminoacyl-tRNA synthesis. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 617–650.
- 14 Dong J, Qiu H, Garcia-Barrio M, Anderson J, Hinnebusch AG. Uncharged tRNA activates GCN2 by displacing the protein kinase moiety from a bipartite tRNA-binding domain. *Mol Cell* 2000; 6(2): 269–279.
- 15 Berlanga JJ, Santoyo J, De Haro C. Characterization of a mammalian homolog of the GCN2 eukaryotic initiation factor 2 α kinase. *Eur J Biochem* 1999; 265(2): 754–762.
- 16 Hinnebusch AG, Natarajan K. Gcn4p, a master regulator of gene expression, is controlled at multiple levels by diverse signals of starvation and stress. *Eukaryot Cell* 2002; 1(1): 1–11.

- 22–32.
- 17 Hinnebusch AG. Translational regulation of GCN4 and the general amino acid control of yeast. *Annu Rev Microbiol* 2005; 59: 407–450.
- 18 Efeyan A, Comb WC, Sabatini DM. Nutrient-sensing mechanisms and pathways. *Nature* 2015; 517(7534): 302–310.
- 19 B'Chir W, Maurin AC, Carraro V, Averous J, Jousse C, Muranishi Y, Parry L, Stepien G, Fafournoux P, Bruhat A. The eIF2 α /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(16): 7683–7699.
- 20 Chiu MI, Katz H, Berlin V. RAPT1, a mammalian homolog of yeast Tor, interacts with the FKBP12/rapamycin complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(26): 12574–12578.
- 21 Brown EJ, Albers MW, Shin TB, Ichikawa K, Keith CT, Lane WS, Schreiber SL. A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex. *Nature* 1994; 369(6483): 756–758.
- 22 Sabatini DM, Erdjument-Bromage H, Lui M, Tempst P, Snyder SH. RAFT1: a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell* 1994; 78(1): 35–43.
- 23 Shimobayashi M, Hall MN. Multiple amino acid sensing inputs to mTORC1. *Cell Res* 2016; 26(1): 7–20.
- 24 Wolfson RL, Chantranupong L, Saxton RA, Shen K, Scaria SM, Cantor JR, Sabatini DM. Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* 2016; 351(6268): 43–48.
- 25 Duran RV, Oppliger W, Robitaille AM, Heiserich L, Skendaj R, Gottlieb E, Hall MN. Glutaminolysis activates Rag-mTORC1 signaling. *Mol Cell* 2012; 47(3): 349–358.
- 26 Chantranupong L, Scaria SM, Saxton RA, Gygi MP, Shen K, Wyant GA, Wang T, Harper JW, Gygi SP, Sabatini DM. The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway. *Cell* 2016; 165(1): 153–164.
- 27 Tsun ZY, Bar-Peled L, Chantranupong L, Zoncu R, Wang T, Kim C, Spooner E, Sabatini DM. The folliculin tumor suppressor is a GAP for the RagC/D GTPases that signal amino acid levels to mTORC1. *Mol Cell* 2013; 52(4): 495–505.
- 28 Beugnet A, Tee AR, Taylor PM, Proud CG. Regulation of targets of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling by intracellular amino acid availability. *Biochem J* 2003; 372(Pt 2): 555–566.
- 29 Christie GR, Hajdich E, Hundal HS, Proud CG, Taylor PM. Intracellular sensing of amino acids in *Xenopus laevis* oocytes stimulates p70 S6 kinase in a target of rapamycin-dependent manner. *J Biol Chem* 2002; 277(12): 9952–9957.
- 30 Gahl WA, Bashan N, Tietze F, Bernardini I, Schulman JD. Cystine transport is defective in isolated leukocyte lysosomes from patients with cystinosis. *Science* 1982; 217(4566): 1263–1265.
- 31 Harms E, Gochman N, Schneider JA. Lysosomal pool of free-amino acids. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 99(3): 830–836.
- 32 Zoncu R, Bar-Peled L, Efeyan A, Wang S, Sancak Y, Sabatini DM. mTORC1 senses lysosomal amino acids through an inside-out mechanism that requires the vacuolar H⁺-ATPase. *Science* 2011; 334(6056): 678–683.
- 33 Jung J, Genau HM, Behrends C. Amino acid-dependent mTORC1 regulation by the lysosomal membrane protein SLC38A9. *Mol Cell Biol* 2015; 35(14): 2479–2494.
- 34 Rebsamen M, Pochini L, Stasyk T, de Araujo ME, Galluccio M, Kandasamy RK, Snijder B, Fauster A, Rudashevskaya EL, Bruckner M, Scorzoni S, Filipek PA, Huber KV, Bigenzahn JW, Heinz LX, Kraft C, Bennett KL, Indiveri C, Huber LA, Superti-Furga G. SLC38A9 is a component of the lysosomal amino acid sensing machinery that controls mTORC1. *Nature* 2015; 519(7544): 477–481.
- 35 Wang S, Tsun ZY, Wolfson RL, Shen K, Wyant GA, Plovanich ME, Yuan ED, Jones TD, Chantranupong L, Comb W, Wang T, Bar-Peled L, Zoncu R, Straub C, Kim C, Park J, Sabatini BL, Sabatini DM. Metabolism. Lysosomal amino acid transporter SLC38A9 signals arginine sufficiency to mTORC1. *Science* 2015; 347(6218): 188–194.
- 36 Dechant R, Saad S, Ibanez AJ, Peter M. Cytosolic pH regulates cell growth through distinct GTPases, Arf1 and Gtr1, to promote Ras/PKA and TORC1 activity. *Mol Cell* 2014; 55(3): 409–421.
- 37 Stransky LA, Forgac M. Amino acid availability modulates vacuolar H⁺-ATPase assembly. *J Biol Chem* 2015; 290(45): 27360–27369.
- 38 Hara K, Yonezawa K, Weng QP, Kozlowski MT, Belham C, Avruch J. Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70 S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 1998; 273(23): 14484–14494.
- 39 Wang X, Campbell LE, Miller CM, Proud CG. Amino acid availability regulates p70 S6 kinase and multiple translation factors. *Biochem J* 1998; 334 (Pt 1): 261–267.
- 40 Kobayashi T, Shimabukuro-Demoto S, Yoshida-Sugitani R, Furuyama-Tanaka K, Karyu H, Sugiura Y, Shimizu Y, Hosaka T, Goto M, Kato N, Okamura T, Suematsu M, Yokoyama S, Toyama-Sorimachi N. The histidine transporter SLC15A4 coordinates mTOR-dependent inflammatory responses and pathogenic antibody production. *Immunity* 2014; 41(3): 375–388.
- 41 Ogmundsdottir MH, Heublein S, Kazi S, Reynolds B, Visvalingam SM, Shaw MK, Goberdhan DC. Proton-assisted amino acid transporter PAT1 complexes with Rag GTPases

- and activates TORC1 on late endosomal and lysosomal membranes. *PLoS One* 2012; 7(5): e36616.
- 42 Binda M, Peli-Gulli MP, Bonfils G, Panchaud N, Urban J, Sturgill TW, Loewith R, De Virgilio C. The Vam6 GEF controls TORC1 by activating the EGO complex. *Mol Cell* 2009; 35(5): 563–573.
 - 43 Peli-Gulli MP, Sardu A, Panchaud N, Raucchi S, De Virgilio C. Amino acids stimulate TORC1 through Lst4-Lst7, a GT-Pase-activating protein complex for the Rag family GTPase Gtr2. *Cell Rep* 2015; 13(1): 1–7.
 - 44 Stracka D, Jozefczuk S, Rudroff F, Sauer U, Hall MN. Nitrogen source activates TOR (target of rapamycin) complex 1 via glutamine and independently of Gtr/Rag proteins. *J Biol Chem* 2014; 289(36): 25010–25020.
 - 45 Chen WW, Freinkman E, Sabatini DM. Rapid immunopurification of mitochondria for metabolite profiling and absolute quantification of matrix metabolites. *Nat Protoc* 2017; 12(10): 2215–2231.
 - 46 Wyant GA, Abu-Remaileh M, Wolfson RL, Chen WW, Freinkman E, Danai LV, Vander Heiden MG, Sabatini DM. mTORC1 activator SLC38A9 is required to efflux essential amino acids from lysosomes and use protein as a nutrient. *Cell* 2017; 171(3): 642–654.e12.
 - 47 Milkereit R, Persaud A, Vanoaica L, Guetg A, Verrey F, Rotin D. LAPTM4b recruits the LAT1-4F2hc Leu transporter to lysosomes and promotes mTORC1 activation. *Nat Commun* 2015; 6: 7250.
 - 48 Taylor PM. Role of amino acid transporters in amino acid sensing. *Am J Clin Nutr* 2014; 99(1): 223s–230s.
 - 49 Abu-Remaileh M, Wyant GA, Kim C, Laqtom NN, Abbasi M, Chan SH, Freinkman E, Sabatini DM. Lysosomal metabolomics reveals V-ATPase- and mTOR-dependent regulation of amino acid efflux from lysosomes. *Science* 2017; 358(6364): 807–813.
 - 50 Verdon Q, Boonen M, Ribes C, Jadot M, Gasnier B, Sagne C. SNAT7 is the primary lysosomal glutamine exporter required for extracellular protein-dependent growth of cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(18): E3602–E3611.
 - 51 Beaumatin F, O'Prey J, Barthet VJA, Zunino B, Parvy JP, Bachmann AM, O'Prey M, Kania E, Gonzalez PS, Macintosh R, Lao LY, Nixon C, Lopez J, Long JS, Tait SWG, Ryan KM. mTORC1 activation requires DRAM-1 by facilitating lysosomal amino acid efflux. *Mol Cell* 2019; 76(1): 163–176.e8.
 - 52 Krebs M, Brehm A, Krssak M, Anderwald C, Bernroider E, Nowotny P, Roth E, Chandramouli V, Landau BR, Waldhauser W, Roden M. Direct and indirect effects of amino acids on hepatic glucose metabolism in humans. *Diabetologia* 2003; 46(7): 917–925.
 - 53 Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, Lewis GD, Fox CS, Jacques PF, Fernandez C, O'Donnell CJ, Carr SA, Mootha VK, Florez JC, Souza A, Melander O, Clish CB, Gerszten RE. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med* 2011; 17(4): 448–453.
 - 54 Zhang Y, Guo K, LeBlanc RE, Loh D, Schwartz GJ, Yu YH. Increasing dietary leucine intake reduces diet-induced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms. *Diabetes* 2007; 56(6): 1647–1654.
 - 55 Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien LF, Haqq AM, Shah SH, Arlotto M, Slentz CA, Rochon J, Gallup D, Ilkayeva O, Wenner BR, Yancy WS, Eisenson H, Musante G, Surwit RS, Millington DS, Butler MD, Svetkey LP. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metabolism* 2009; 9(4): 311–326.
 - 56 Patti ME, Brambilla E, Luzi L, Landaker EJ, Kahn CR. Bidirectional modulation of insulin action by amino acids. *J Clin Invest* 1998; 101(7): 1519–1529.
 - 57 Zeng Y, Mtintsilana A, Goedecke JH, Micklesfield LK, Olsson T, Chorell E. Alterations in the metabolism of phospholipids, bile acids and branched-chain amino acids predicts development of type 2 diabetes in black South African women: a prospective cohort study. *Metabolism* 2019; 95: 57–64.
 - 58 Adams SH. Emerging perspectives on essential amino acid metabolism in obesity and the insulin-resistant state. *Adv Nutr* 2011; 2(6): 445–456.
 - 59 Ables GP, Perrone CE, Orentreich D, Orentreich N. Methionine-restricted C57BL/6J mice are resistant to diet-induced obesity and insulin resistance but have low bone density. *PLoS One* 2012; 7(12): e51357.
 - 60 Stone KP, Wanders D, Orgeron M, Cortez CC, Gettys TW. Mechanisms of increased *in vivo* insulin sensitivity by dietary methionine restriction in mice. *Diabetes* 2014; 63(11): 3721–3733.
 - 61 de Koning TJ, Snell K, Duran M, Berger R, Poll-The BT, Surtees R. L-serine in disease and development. *Biochem J* 2003; 371(Pt 3): 653–661.
 - 62 Metcalf JS, Dunlop RA, Powell JT, Banack SA, Cox PA. L-Serine: a naturally-occurring amino acid with therapeutic potential. *Neurotox Res* 2018; 33(1): 213–221.
 - 63 Berteau M, Rutti MF, Othman A, Marti-Jaun J, Hersberger M, von Eckardstein A, Hornemann T. Deoxysphingoid bases as plasma markers in diabetes mellitus. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 84.
 - 64 Enquobahrie DA, Denis M, Tadesse MG, Gelaye B, Ressom HW, Williams MA. Maternal early pregnancy serum metab-

- olites and risk of gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(11): 4348–4356.
- 65 Vangipurapu J, Stancakova A, Smith U, Kuusisto J, Laakso M. Nine amino acids are associated with decreased insulin secretion and elevated glucose levels in a 7.4-year follow-up study of 5,181 finnish men. *Diabetes* 2019; 68(6): 1353–1358.
- 66 Holm LJ, Haupt-Jorgensen M, Larsen J, Giacobini JD, Bilgin M, Buschard K. L-serine supplementation lowers diabetes incidence and improves blood glucose homeostasis in NOD mice. *PLoS One* 2018; 13(3): e0194414.
- 67 Felig P, Marliss E, Cahill GF Jr. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. *N Engl J Med* 1969; 281(15): 811–816.
- 68 Felig P, Wahren J, Hendler R, Brundin T. Splanchnic glucose and amino acid metabolism in obesity. *J Clin Invest* 1974; 53(2): 582–590.
- 69 Guo F, Cavener DR. The GCN2 eIF2 α kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid. *Cell Metab* 2007; 5(2): 103–114.
- 70 Zhang F, Zhao S, Yan W, Xia Y, Chen X, Wang W, Zhang J, Gao C, Peng C, Yan F, Zhao H, Lian K, Lee Y, Zhang L, Lau WB, Ma X, Tao L. Branched chain amino acids cause liver injury in obese/diabetic mice by promoting adipocyte lipolysis and inhibiting hepatic autophagy. *EBioMedicine* 2016; 13: 157–167.
- 71 Arakawa M, Masaki T, Nishimura J, Seike M, Yoshimatsu H. The effects of branched-chain amino acid granules on the accumulation of tissue triglycerides and uncoupling proteins in diet-induced obese mice. *Endocr J* 2011; 58(3): 161–170.
- 72 Iwao M, Gotoh K, Arakawa M, Endo M, Honda K, Seike M, Murakami K, Shibata H. Supplementation of branched-chain amino acids decreases fat accumulation in the liver through intestinal microbiota-mediated production of acetic acid. *Sci Rep* 2020; 10(1): 18768.
- 73 Galarregui C, Cantero I, Marin-Alejandre BA, Monreal JI, Elorz M, Benito-Boillos A, Herrero JI, de la OV, Ruiz-Canela M, Hermsdorff HHM, Bressan J, Tur JA, Martínez JA, Zulet MA, Abete I. Dietary intake of specific amino acids and liver status in subjects with nonalcoholic fatty liver disease: fatty liver in obesity (FLiO) study. *Eur J Nutr* 2021; 60(4): 1769–1780.
- 74 Kalhan SC, Guo L, Edmison J, Dasarathy S, McCullough AJ, Hanson RW, Milburn M. Plasma metabolomic profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2011; 60(3): 404–413.
- 75 Jegatheesan P, Beutheu S, Ventura G, Nubret E, Sarfati G, Bergheim I, De Bandt JP. Citrulline and nonessential amino acids prevent fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in Rats. *J Nutr* 2015; 145(10): 2273–2279.
- 76 Franz MJ, Bantle JP, Beebe CA, Brunzell JD, Chiasson JL, Garg A, Holzmeister LA, Hoogwerf B, Mayer-Davis E, Mooradian AD, Purnell JQ, Wheeler M. Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. *Diabetes Care* 2003; 26 Suppl 1: S51–S61.
- 77 Ley SH, Hamdy O, Mohan V, Hu FB. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. *Lancet* 2014; 383(9933): 1999–2007.
- 78 Emadian A, Andrews RC, England CY, Wallace V, Thompson JL. The effect of macronutrients on glycaemic control: a systematic review of dietary randomised controlled trials in overweight and obese adults with type 2 diabetes in which there was no difference in weight loss between treatment groups. *Br J Nutr* 2015; 114(10): 1656–1666.
- 79 Sweeney E. Weight-loss programs for people with diabetes. *Diabetes Self Manag* 2012; 29(4): 50, 52, 54–55.
- 80 Jordi J, Herzog B, Camargo SM, Boyle CN, Lutz TA, Verrey F. Specific amino acids inhibit food intake via the area postrema or vagal afferents. *J Physiol* 2013; 591(22): 5611–5621.
- 81 Lynch CJ, Hutson SM, Patson BJ, Vaval A, Vary TC. Tissue-specific effects of chronic dietary leucine and norleucine supplementation on protein synthesis in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(4): E824–E835.
- 82 Brosnan JT, Brosnan ME. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. *J Nutr* 2006; 136(1 Suppl): 207s–211s.