

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.01.013

二甲双胍在乳腺癌进展和治疗中作用及其机制的研究进展

Research progress in the effects and mechanism of metformin in the development and treatment of breast cancer

康言 综述; 杨妍, 杨赞 审阅(新乡医学院基础医学院 生物化学与分子生物学系, 河南 新乡 453003)

[摘要] 随着乳腺癌患者生存期的延长, 肿瘤耐药性成为治疗过程的严峻挑战之一, 临床通常将细胞死亡标志物的增加作为预测乳腺癌患者生存率提高的标准。通过刺激肿瘤细胞死亡途径来提高抗肿瘤药物治疗的效果, 使用某些佐剂是一种可行的方法。研究表明, 二甲双胍(Met)是治疗II型糖尿病的一线药物, 同时具有抗肿瘤特性, 其能增强细胞死亡机制, 尤其是促进肿瘤细胞自噬、凋亡和铁死亡。同时证明, Met对免疫系统的刺激作用在诱导肿瘤细胞死亡方面发挥作用, 其诱导不同细胞死亡机制在增敏抗肿瘤药物治疗中起着关键作用。本文论述了Met对乳腺癌肿瘤微环境(TME)的调控作用机制及其在抗肿瘤药物治疗中的增敏作用, 对Met在临床前和临床免疫治疗中的研究方向提出建议。

[关键词] 二甲双胍; 乳腺癌; 细胞死亡; 抗肿瘤; 肿瘤微环境

[中图分类号] R979.1⁹; R737.9; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)01-0094-07

二甲双胍(metformin, Met)是治疗II型糖尿病的一线降糖药物, 也是一种潜在的抗肿瘤药物。在国内外, 女性乳腺癌发病率及病死率均位居肿瘤首位^[1-2], 乳腺癌耐药性和免疫逃逸现象已严重威胁众多女性患者的生命健康。研究结果^[3-7]显示, Met可以在多种肿瘤中通过不同的作用机制发挥抗肿瘤效应, 在肿瘤治疗中有望实现再利用的目标。据统计, 仅有3%左右的肿瘤学药物再利用研究取得成功^[8]。Met与标准化疗药物的组合提供的协同作用, 延缓了部分乳腺癌患者的疾病发展进程^[9], 显示出其作为支持主流抗癌疗法的潜力。因此, 本文对Met作为肿瘤治疗中的辅助药物的作用机制和益处, 以及它的局限性进行了批判性的回顾和讨论。

1 Met—潜在的抗乳腺癌药物

流行病学研究^[10]表明, 糖尿病与恶性肿瘤发病率之间存在较高的相关性, 尤其是与乳腺癌有密切关系。Met是一种源于山羊豆(*galega officinalis*)的天然草药萃取的口服双胍类降糖药物^[11], 通过摄取外周葡萄糖、减少肝糖异生, 促进餐后降糖。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是常见的能量感应调节蛋白。作为Met上游信号通路的关键靶点之一, 当AMP/三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)比率增加时, 被动激活AMPK后下调下游PI3K/AKT/mTOR等信号通路, 参与调控细胞能量代谢、增殖和应激^[12]。Met可以通过线粒体和促氧化剂酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成^[13], 增加正常细胞中基因组

的稳定性, 从而减弱肿瘤的侵袭和转移^[14]。在肿瘤免疫治疗中, Met激活AMPK后可抑制单核细胞中信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)磷酸化及其向M2型巨噬细胞的分化, 抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移^[15]。此外, Met可以减弱部分炎性因子(如TNF- α 、NF- κ B、IL-6、IL-11等)的表达和活性, 来发挥其抗肿瘤作用^[16]。

2 Met杀伤乳腺癌细胞的调控机制

2.1 对LKB1/mTOR和HER2信号通路的调节作用

肝激酶B1(liver kinase B1, LKB1)是一种重要的抑瘤因子和激酶^[17], LKB1在乳腺癌组织中的表达水平与患者总生存期成正比^[18], Met(一种间接AMPK激活剂)激活AMPK上游的LKB1, 阻断下游生长信号效应因子mTOR转导, 抑制肿瘤细胞增殖。研究结果^[19-21]表明, mTOR与化疗耐药性关系密切, 可能是通过激活人表皮生长因子受体2(HER2)诱导原癌蛋白成为致癌蛋白, 同时利用细胞功能缺失突变抑制肿瘤抑制蛋白。70 kD核糖体蛋白S6激酶(70 kD ribosomal protein S6 kinase, P70RSK)是一种源于蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)的激酶, 可以磷酸化并激活蛋白激酶S6、HER2等癌蛋白合成的诱导物。Met抑制mTOR后激活PP2A, 进而抑制

[基金项目] 河南省自然科学基金(No. 202300410322, No. 202300420266); 河南省高等学校重点科研项目(No. 22A310007)

[作者简介] 康言(2001—), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤靶向药物的研究。

E-mail: kangyan20010320@163.com

[通信作者] 杨赞, E-mail: jamesyangyun1@126.com

P70RSK, 减少 HER2 表达^[22]。研究^[23]表明, 在肝癌中 IL-11 刺激肝癌细胞中细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 活性, 导致 90 kD 核糖体蛋白 S6 激酶 (90 kD ribosomal S6 kinase, P90RSK) 活化和 LKB1 在 S325 (通过 ERK) 和 S428 (通过 P90RSK) 的连续磷酸化, 抑制 AMPK 并激活 mTOR 和 P70RSK, 引起上皮细胞功能障碍和基质细胞活化。据此推测, Met 对新陈代谢、纤维化及肿瘤的益处可能与 IL-11/ERK/P90RSK 介导的 LKB1 抑制疾病的背景下激活 AMPK 有关, 同时对乳腺癌研究也有一定的启发作用。

2.2 对细胞周期的阻滞作用

细胞周期蛋白 G2 (cyclin G2, CycG2) 是一种重要的细胞周期抑制蛋白, 受雌二醇 (estrogen 2, E2) 结合的雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 的负调节, 当 CycG2 过表达时可导致细胞周期停滞于 P53 依赖的 G1 期^[24-26]。研究^[27]表明, 在 E2 存在的情况下, ER⁺ 乳腺癌细胞表达较低水平的 CycG2, 有助于它们的有丝分裂活动。此外, 在雌激素敏感的乳腺癌 MCF-7 细胞中, Met 以 CycG2 依赖的方式促进 G1 期细胞周期阻滞。受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK) 可以诱导 PI3K/AKT/mTOR 信号通路激活, 促进 ER 磷酸化, 抑制 CycG2 表达阻滞细胞周期。而当使用 mTOR 抑制剂 (如 Met) 时, 则可促进 CycG2 高表达, 抑制乳腺癌细胞的增殖。此外, 敲除 CycG2 基因可减少 E2 缺失, 并且抑制 ER 拮抗剂氟维司群 (fulvestrant) 处理的乳腺癌 MCF-7 细胞的细胞周期阻滞。CycG2 是由雌激素调控基因 CycG2 编码的一种常见的细胞周期蛋白准基因, 当 E2 结合 ER 相互作用时直接抑制 CycG2 基因转录^[25]。一项乳腺癌 Meta 分析^[25]的结果表明, 在侵袭性、预后不良的乳腺癌患者中 CycG2 的表达与患者生存期密切相关。以上发现均提示, 提高 CycG2 有助于抑制乳腺癌相关信号转导。

2.3 诱导自噬和凋亡的作用

自噬是指在代谢压力刺激下通过溶酶体降解未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 和不必要的细胞器的过程。作为一把“双刃剑”伴随癌细胞死亡或存活^[28-29], 自噬可能导致自噬细胞本身死亡或肿瘤细胞凋亡。一方面 PI3K/AKT 信号通路与细胞自噬、凋亡相关, mTOR 是 PI3K/AKT 通路重要的下游调节因子, 在蛋白质合成和自噬中起重要作用。AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 维持细胞存活和葡萄糖稳态平衡, AKT2 在胰岛素敏感组织中表达较高, 并且常参与乳腺癌细胞的存活和增殖^[30-32]。mTORC2 磷酸化可激活 AKT, 使 Ser253 残基上的转录因子叉头框 O3 (forkhead box O3, FOXO3) 磷酸化,

导致其失活和细胞质隔离诱导自噬。Met 通过 AMPK 介导的糖异生抑制, 减少胰岛素的释放和活性, 阻断 mTORC2 的激活, 进而保持 FOXO3 的活性。另一方面, AMPK 在 Ser413 残基上将 FOXO3 磷酸化, 也可导致其活性增加^[33]。然而, 自噬活动受到抑制时, UPR 大量积累表明受损蛋白积累, 进而诱导肿瘤的发生。Met 可以触发受损细胞中的自噬细胞死亡, 从而防止肿瘤的发生^[34]。

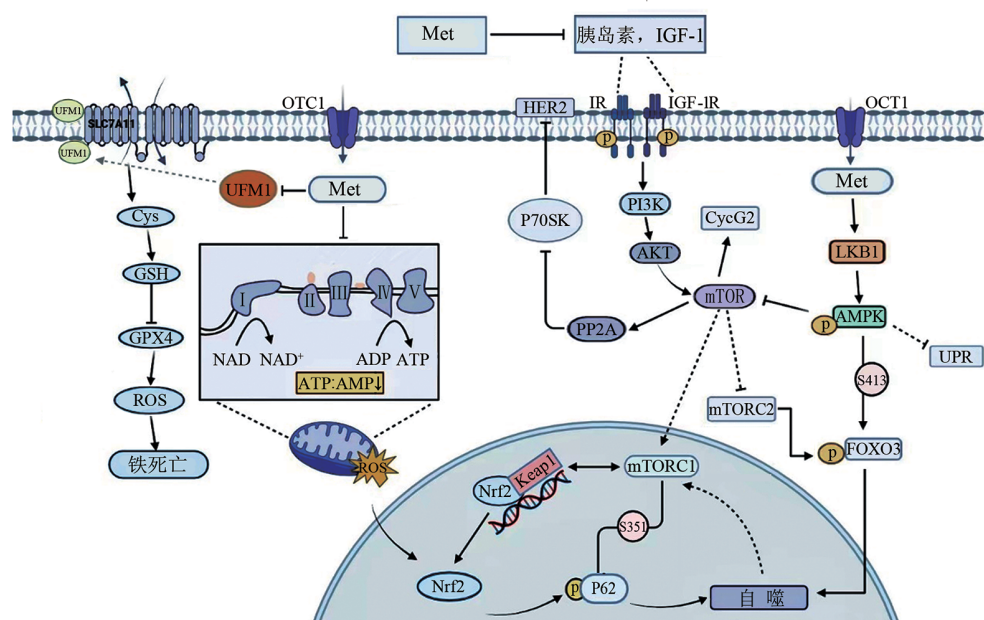
细胞凋亡是细胞程序性死亡的主要形式, 由半胱氨酸一天冬氨酸酶 (caspase) 的级联反应激活触发典型凋亡信号通路。研究^[35]发现, Z-Vad (细胞凋亡抑制剂) 与 Met 的联合治疗明显抑制了乳腺癌 MCF-7 细胞的存活和增殖。此外也有类似发现, 萝卜硫素和纳米 Met (nanocarriers-Met) 联合作用 HER2⁺ 乳腺癌细胞后 Bcl-2 表达显著降低而 BAX 表达显著升高, 并且细胞死亡增加与 BAX 水平直接相关^[36]。

2.4 诱导铁死亡

铁死亡是一种铁依赖的脂质过氧化堆积造成肿瘤细胞死亡的形式, 主要特征包括线粒体外膜破裂和线粒体嵴减少或消失^[37]。溶质运载蛋白 7 家族成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 是一种关键的铁死亡调节蛋白, 在乳腺癌、肺癌等恶性肿瘤中表达上调, 促使肿瘤细胞抗氧化能力增强。据报道^[38], 泛素折叠修饰因子 1 (ubiquitin-fold modifier 1, UFM1) 和 SLC7A11 具有相关性, Met 直接抑制 UFM1 表达, 并且通过抑制 SLC7A11 的类泛素化修饰破坏 SLC7A11 蛋白稳定性, 降低谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 蛋白水平和增加脂质 ROS 含量, 来诱导乳腺癌细胞发生铁死亡。

2.5 对 ROS 产生的刺激作用

研究^[39]表明, Met 对正常细胞和肿瘤细胞的 DNA 损伤以及细胞死亡具有双重作用。生理浓度下的 Met 可抑制 NAD, 激活 AMPK 诱导线粒体 ROS (mtROS) 的产生, 导致 mTORC1 表达下降, 促进肿瘤细胞发生凋亡^[40]。另一方面, Met 激活 mtROS 后, 刺激 CD8⁺ TIL 中的糖酵解和核因子-E2 相关因子 2 (NF-E2-related factor 2, Nrf2), Nrf2 通过自噬和谷氨酰胺分解促进 mTORC1 的激活。体内实验发现, Met 可促进荷瘤小鼠肿瘤浸润性 CD8⁺ TIL 中 ROS 的产生, ROS 以糖酵解依赖的方式激活 Nrf2, 而后 Nrf2 诱导 P62 表达, 促进细胞自噬。自噬衍生的 α -酮戊二酸通过携带 RagB 的 GTP 将 mTOR 转移到溶酶体膜而激活 mTORC1, 后者在 S351 磷酸化 P62 后与 Keap1/Nrf2 复合体相互作用, 进一步激活 Nrf2 形成一个正反馈循环 (图 1), 促进 CD8⁺ TIL 增殖^[13], 触发 Met 依赖性抗肿瘤免疫。



IGF-1: 胰岛素生长因子-1 (insulin-like growth factor 1); IGF-1R: 胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor); OTC1: 有机转运蛋白 1 (organic transporter 1); Cys: 半胱氨酸 (cysteine); GSH: 谷胱甘肽 (glutathione); ADP: 二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate)。

图1 Met 诱导乳腺癌细胞死亡的机制图(改绘自 <https://BioRender.com>)

3 Met 对乳腺癌肿瘤微环境的调控作用

刺激肿瘤免疫因子是抑制肿瘤生长的新型治疗方法之一。Met 在放化疗过程中可以减轻正常组织毒性, 并对肿瘤细胞产生增敏作用。在肿瘤微环境中存在的肿瘤抑制性免疫细胞 (包括 CD4⁺ 细胞、CD8⁺ 细胞和 NK 细胞等)、刺激肿瘤细胞侵袭与增殖的免疫细胞 (包括 Treg 细胞、肿瘤相关巨噬细胞等)。Met 的安全性已获得临床有效验证, 其可以在肿瘤微环境中通过调节原发性免疫细胞, 进一步改善缺氧、抑制慢性炎症, 或许有潜在的抗肿瘤作用。

3.1 激活 T 细胞代谢活性

CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞是免疫疗法的关键目标, CD4⁺ T 细胞参与释放抗肿瘤细胞因子 TNF- α 和 IFN- γ , 这些细胞有助于 CD8⁺ T 细胞直接对抗癌细胞的活性。研究^[41]发现, 在 MHC II 分子高表达的肿瘤中, CD4⁺ T 细胞可以直接抑制肿瘤, 但在其他肿瘤中, 由抗原提呈细胞 (APC) 提呈的肿瘤抗原则可以激活 CD4⁺ T 细胞。CD4⁺ T 细胞有两个不同的亚群, 包括 Th1 和 Th2 细胞。Th1 细胞释放抗肿瘤细胞因子, 导致肿瘤细胞的直接杀伤, 并激活其他抗肿瘤免疫细胞, 包括 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞; Th2 细胞通过释放免疫抑制生长因子如 TGF- β 和细胞因子, 包括 IL-4、IL-10、IL-13 等诱导耐受性反应^[42-43]。研究^[44]发现, 用 Met 处理与单核细胞共培养的 HER2⁺ 乳腺癌细胞后 IL-10 释放下降, 同时刺激 IFN- γ 的释放。另

一项临床研究结果^[45]表明, Met 治疗可以增加早期乳腺癌患者中 T 淋巴细胞 (包括 CD4⁺ T 细胞) 的浸润。

3.2 影响巨噬细胞极化

巨噬细胞是肿瘤微环境的关键调节者, 巨噬细胞的活化状态可以分为两个亚类, 即经典活化的 M1 型和选择性活化的 M2 型^[46]。M1 型巨噬细胞活化后 IL-1 β 释放增多, 进一步刺激肿瘤细胞对 PD-L1 的表达, 导致抗肿瘤免疫细胞的衰竭^[47]。在体内实验中发现, Met 明显抑制乳腺癌荷瘤小鼠脾中 M 样巨噬细胞 (F4/80⁺CD206⁺), 同时可抑制单核髓源性抑制细胞和 Treg 细胞 (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺)^[48]。此外, 在乳腺癌中的研究^[49]也已证实, Met 给药后促进肿瘤相关巨噬细胞向 M1 型巨噬细胞的重编程, 抑制 M2 型巨噬细胞的促肿瘤效应。随后在另一项胰腺肿瘤模型研究^[50]中发现, Met 显著减少了促肿瘤细胞因子如 IL-1 和 TGF- β 的释放, 从而抑制巨噬细胞向肿瘤相关巨噬细胞的极化, 招募 CTL 到肿瘤组织, 恢复免疫系统的抗肿瘤功能。以上研究结果均表明, Met 能够激发巨噬细胞的极化。然而, Met 与肿瘤细胞和其他免疫细胞如何相互作用的机制有待挖掘。

3.3 减少中性粒细胞的募集

肿瘤细胞增殖过程中产生炎症反应, 导致中性粒细胞水平升高, 而功能性淋巴细胞水平通常降低。中性粒细胞诱导几种细胞因子, 例如血管内皮生长因子 (VEGF), 其有助于血管生成和肿瘤生长^[51]。中

性粒细胞/淋巴细胞比率 (neutrophil/lymphocyte ratio, NLR) 是一种典型的炎症标志物。研究^[52]表明, NLR 与乳腺癌患者总生存率具有较强的相关性, 但没有确定的 NLR 值可以证实较高的病死率。此外, 中性粒细胞计数过多可能会导致纤维网状结构及其分泌物增加, 包括染色质和蛋白质^[53]。中性粒细胞膜的不稳定导致密集网状结构的释放, 这可能会诱导与几种自身免疫性疾病相关的持续性炎症^[54]。Met 已被证明可抑制蛋白激酶 C β II 向细胞膜的转移, 并防止 NAD 氧化酶的下游激活, 减少中性粒细胞募集, 进一步缓解肿瘤患者继发性免疫炎症^[55]。

4 Met 增敏作用的应用

Met 可以促进 DNA 修复, 防止基因组不稳定和细胞突变。此外, 抑制线粒体和促氧化剂酶也可以减少正常细胞中基因组的不稳定性, 并且减少肿瘤的侵袭、血管生成和转移。多项研究^[56]显示, 乳腺癌风险和 II 型糖尿病以及 Met 之间具有紧密联系, 胰岛素抵抗和高胰岛素血症被认为是癌症发生的独立危险因素。回顾性临床数据及其在培养的乳腺癌细胞和动物模型中进行的临床前研究结果一再表明, Met 可能具有协同增敏作用而用于乳腺癌的治疗(表 1)。

表 1 Met 在乳腺癌中协同治疗的研究

药物协同治疗	作用机制和疗效	肿瘤类型	研究类型	参考文献
Met 和白藜芦醇	Met 能抑制低浓度白藜芦醇诱导的细胞增殖和迁移, 而促进高浓度白藜芦醇诱导的细胞凋亡。Met 联合白藜芦醇对 TNBC 发挥协同治疗作用而有效阻止肿瘤生长	TNBC	MDA-MB-231 细胞	[57]
Met 和抗 HER2	Met 抑制 BCAHC-1 细胞中胰岛素诱导的 IR 活化, 激活 MEK/MAPK 和 PI3K/AKT; 阻滞细胞周期蛋白 D1 表达	乳腺癌	BCAHC-1 细胞	[58]
Met 和紫杉醇	通过激活 TLR-MyD88-ERK 的 Toll 样受体信号协同诱导细胞毒性和凋亡	乳腺癌	4T1 细胞 BALB/c 鼠模型	[59]
Met 和阿司匹林	通过分泌 TGF- β 1 促进 4T1 细胞凋亡	乳腺癌	4T1 细胞	[60]
Met 和靶向 METTL3	Met 通过 miR-483-3p/METTL3/m6A/p21 途径发挥抗乳腺癌增殖活性	乳腺癌	SUM1315、MCF-7、BT474 细胞	[61]
Met 和 2-D-G	Met 和 2-D-G 协同降低乳腺癌细胞中 PD-L1 水平及其活化 T 细胞 PD-1 水平	TNBC	MDA-MB-231、BT-549 细胞	[62]
Met 和标准治疗	在标准乳腺癌治疗中添加 Met 并未明显改善肿瘤侵袭性和患者的无疾病生存期	乳腺癌	随机临床实验	[63]

TNBC: 三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer); 2-D-G: 2-脱氧-D-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose)。

4.1 增效曲妥珠单抗

HER2 通过与 IGF-1R 形成异二聚体而被激活和磷酸化, 两者相互作用与靶向 HER2 的单克隆抗体 (如曲妥珠单抗) 的耐药性密切相关^[64-65]。研究^[66]发现, 曲妥珠单抗耐药胃癌细胞 (N87TR、SNU216TR) 由生物钟基因 BMAL1-CLOCK-PER1 轴调节己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2) 介导的糖酵解活性上调, 呈现昼夜节律震荡触发曲妥珠单抗耐药。人昼夜节律蛋白 1 (period circadian regulator 1, PER1) 与过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 相互作用影响 PER1 转录活性, 研究者在 PER1 敲除的肿瘤中发现, HK2 表达下调后糖酵解活性通常降低并且失去昼夜节律变化。根据 HK2 昼夜节律变化给予糖酵解抑制剂 Met 治疗可显著弱化曲妥珠单抗的耐药性。基于以上研究发现, 曲妥珠单抗作为已知最常用的 HER2⁺ 乳腺癌患者的用药, 这一研究可能为乳腺癌的基础研究提供新的思路。

4.2 提高 PD-1 阻断剂的效率

免疫检查点抑制剂的主要作用机制是诱导 CTL 和 NK 细胞的凋亡^[67]。在这一过程中, PD-1 和 CTL 相

关蛋白 4 (CTLA4) 是关键的两个靶点^[68]。据报道, Met 能增强抗肿瘤活性并且辅助维持免疫检测 CTL 阈值。PD-1 与肿瘤细胞释放的 PD-L1 结合导致 CTL 中凋亡级联的激活, 而且 Met 激活 AMPK 后, 其磷酸化 AMPK 直接下调 PD-L1 的表达^[69-71]。此外, Met 还可以磷酸化 YAP-1 蛋白并阻止该蛋白向细胞核内转移, 进一步抑制 PD-L1 的表达^[72]。另一方面, CD8⁺ T 细胞中 AMPK 的激活后抑制 miR-107 表达, 并且使 PD-1 和 Tim-3 组成的免疫检查点的表达下调^[73]。

5 结 语

乳腺癌是全球女性中发病率位居榜首 (约占 31%) 的恶性肿瘤^[2], 被称为危害女性健康的“第一杀手”, 目前治疗手段仍有限。降糖药 Met 的低成本性和高安全性在临床得到广泛使用。近年来, Met 发挥抑制乳腺肿瘤的作用已经从分子、细胞、动物多个维度得到客观地验证, 但临床数据支撑尚不全面, 现在不可断定 Met 对临床有益, 这需要更多的临床试验来指导 Met 的未来使用方向, 并为正在进行的基础实验性研究提供足够的客观信息。另一方面, 对于 Met 的

基础研究工作,可以进一步探索Met协同作用;此外,改进该药分子结构和剂型,以期形成靶向药物等。相信随着Met再利用的深入研究,将为乳腺癌患者或者其他肿瘤患者提供更多样的治疗方案。

[参 考 文 献]

- [1] ZHENG R, ZHANG S, ZENG H, *et al.* Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. *Journal of the National Cancer Center*, 2022, 2(1): 1-9. DOI: 10.1016/j.jncc.2022.02.002.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, *et al.* Cancer statistics, 2023[J]. *CA Cancer J Clinicians*, 2023, 73(1): 17-48. DOI: 10.3322/caac.21763.
- [3] GARCÍA-SÁENZ M, LOBATON-GINSBERG M, FERREIRA-HERMOSILLO A. Metformin in differentiated thyroid cancer: molecular pathways and its clinical implications[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(4): 574. DOI: 10.3390/biom12040574.
- [4] YU O H Y, SUISSA S. Metformin and cancer: solutions to a real-world evidence failure[J]. *Diabetes Care*, 2023, 46(5): 904-912. DOI: 10.2337/dci22-0047.
- [5] MORALE M G, TAMURA R E, RUBIO I G S. Metformin and cancer hallmarks: molecular mechanisms in thyroid, prostate and head and neck cancer models[J/OL]. *Biomolecules*, 2022, 12(3): 357[20230-8-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35327549/>. DOI: 10.3390/biom12030357.
- [6] FENG J R, LU H, MA W H, *et al.* Genome-wide CRISPR screen identifies synthetic lethality between DOCK1 inhibition and metformin in liver cancer[J]. *Protein Cell*, 2022, 13(11): 825-841. DOI: 10.1007/s13238-022-00906-6.
- [7] JIN P, JIANG J W, ZHOU L, *et al.* Disrupting metformin adaptation of liver cancer cells by targeting the TOMM34/ATP5B axis[J/OL]. *EMBO Mol Med*, 2022, 14(12): e16082[2023-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9728056/>. DOI: 10.15252/emmm.202216082.
- [8] WONG C H, SIAH K W, LO A W. Estimation of clinical trial success rates and related parameters[J]. *Biostatistics*, 2019, 20(2): 273-286. DOI: 10.1093/biostatistics/kxx069.
- [9] SAENGBONMEE C, SANLUNG T, WONGKHAM S. Repurposing metformin for cancer treatment: a great challenge of a promising drug [J]. *Anticancer Res*, 2021, 41(12): 5913-5918. DOI: 10.21873/anticancer.15410.
- [10] CHOU P C, CHOI H H, HUANG Y Z, *et al.* Impact of diabetes on promoting the growth of breast cancer[J]. *Cancer Commun*, 2021, 41(5): 414-431. DOI: 10.1002/cac2.12147.
- [11] SCHULTEN H J. Pleiotropic effects of metformin on cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 2850[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30241339/>. DOI: 10.3390/ijms19102850.
- [12] 刘相良, 纪伟, 李薇. 二甲双胍抗肿瘤机制的研究进展[J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志*, 2021, 8(5): 459-467. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.14.031.
- [13] UDONO H, NISHIDA M. Metformin-ROS-Nrf2 connection in the host defense mechanism against oxidative stress, apoptosis, cancers, and ageing[J/OL]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2022, 1866(8): 130171[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35588955/>. DOI: 10.1016/j.bbagen.2022.130171.
- [14] DOGAN TURACLI I, CANDAR T, YUKSEL E B, *et al.* Potential effects of metformin in DNA BER system based on oxidative status in type 2 diabetes[J]. *Biochimie*, 2018, 154: 62-68. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.08.002.
- [15] VASAMSETTI S B, KARNEWAR S, KANUGULA A K, *et al.* Metformin inhibits monocyte-to-macrophage differentiation via AMPK-mediated inhibition of STAT3 activation: potential role in atherosclerosis[J]. *Diabetes*, 2015, 64(6): 2028-2041. DOI: 10.2337/db14-1225.
- [16] CAMERON A R, MORRISON V L, LEVIN D, *et al.* Anti-inflammatory effects of metformin irrespective of diabetes status[J]. *Circ Res*, 2016, 119(5): 652-665. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308445.
- [17] LI T T, ZHU H B. LKB1 and cancer: the dual role of metabolic regulation[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132: 110872[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33068936/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110872.
- [18] SYED B M, GREEN A R, MORGAN D A L, *et al.* Liver kinase B1-a potential therapeutic target in hormone-sensitive breast cancer in older women[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(2): 149[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3696074/>. DOI: 10.3390/cancers11020149.
- [19] MENENDEZ J A, OLIVERAS-FERRAROS C, CUFÍ S, *et al.* Metformin is synthetically lethal with glucose withdrawal in cancer cells[J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(15): 2782-2792. DOI: 10.4161/cc.20948.
- [20] DEL BARCO S, VAZQUEZ-MARTIN A, CUFÍ S, *et al.* Metformin: multi-faceted protection against cancer[J]. *Oncotarget*, 2011, 2(12): 896-917. DOI: 10.18632/oncotarget.387.
- [21] 郑维锋. HER2 阳性乳腺癌靶向药物的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(6): 587-595. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.011.
- [22] KICKSTEIN E, KRAUSS S, THORNHILL P, *et al.* Biguanide metformin acts on tau phosphorylation via mTOR/protein phosphatase 2A (PP2A) signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(50): 21830-21835. DOI: 10.1073/pnas.0912793107.
- [23] WIDJAJA A A, VISWANATHAN S, TING J G W, *et al.* IL11 stimulates ERK/P90RSK to inhibit LKB1/AMPK and activate mTOR initiating a mesenchymal program in stromal, epithelial, and cancer cells[J/OL]. *iScience*, 2022, 25(8): 104806[2023-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9386112/>. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104806.
- [24] XUE B J, HUANG W, YUAN X, *et al.* YSY01A, a novel proteasome inhibitor, induces cell cycle arrest on G2 phase in MCF-7 cells via ER α and PI3K/Akt pathways[J]. *J Cancer*, 2015, 6(4): 319-326. DOI: 10.7150/jca.10733.
- [25] ZIMMERMANN M, ARACHCHIGE-DON A P S, DONALDSON M S, *et al.* Cyclin G2 promotes cell cycle arrest in breast cancer cells responding to fulvestrant and metformin and correlates with patient survival[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(23): 3278-3295. DOI: 10.1080/15384101.2016.1243189.
- [26] LIU N Q, CAO W H, WANG X, *et al.* Cyclin genes as potential novel prognostic biomarkers and therapeutic targets in breast cancer [J/OL]. *Oncol Lett*, 2022, 24(4): 374[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36238849/>. DOI:10.3892/ol.2022.13494.

- [27] STOSSI F, LIKHTE V S, KATZENELLENBOGEN J A, *et al.* Estrogen-occupied estrogen receptor represses cyclin G2 gene expression and recruits a repressor complex at the cyclin G2 promoter[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(24): 16272-16278. DOI: 10.1074/jbc.m513405200.
- [28] WADGAONKAR P, CHEN F. Connections between endoplasmic reticulum stress-associated unfolded protein response, mitochondria, and autophagy in arsenic-induced carcinogenesis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 76: 258-266. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.04.004.
- [29] SISINNI L, PIETRAFESA M, LEPORÉ S, *et al.* Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in breast cancer: the balance between apoptosis and autophagy and its role in drug resistance [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4): 857[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30781465/>. DOI: 10.3390/ijms20040857.
- [30] 邹远康, 李天, 温博, 等. 蛋白激酶 AKT 不同亚型影响乳腺癌恶性表型的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(21): 4165-4169. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.21.044.
- [31] YUAN Y, LONG H, ZHOU Z, *et al.* PI3K-AKT-targeting breast cancer treatments: natural products and synthetic compounds [J/OL]. *Biomolecules*, 2023, 13(1): 93[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36671478/>. DOI: 10.3390/biom13010093.
- [32] HINZ N, JÜCKER M. Distinct functions of AKT isoforms in breast cancer: a comprehensive review[J/OL]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 154[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31752925/>. DOI: 10.1186/s12964-019-0450-3.
- [33] QUEIROZ E A I F, PUUKILA S, EICHLER R, *et al.* Metformin induces apoptosis and cell cycle arrest mediated by oxidative stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 breast cancer cells[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e98207[2023-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4032293/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0098207.
- [34] DE SANTI M, BALDELLI G, DIOTALLEVI A, *et al.* Metformin prevents cell tumorigenesis through autophagy-related cell death [J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9: 66[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30635619/>. DOI: 10.1038/s41598-018-37247-6.
- [35] DIAS LOPES N M, MARINELLO P C, SANCHES L J, *et al.* Patterns of cell death induced by metformin in human MCF-7 breast cancer cells[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(11): 153199 [2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32932214/>. DOI: 10.1016/j.prp.2020.153199.
- [36] KESHANDEHGHAN A, NIKKHAH S, TAHERMANSOURI H, *et al.* Co-treatment with sulforaphane and nano-metformin molecules accelerates apoptosis in HER2⁺ breast cancer cells by inhibiting key molecules[J]. *Nutr Cancer*, 2020, 72(5): 835-848. DOI: 10.1080/01635581.2019.1655073.
- [37] STOCKWELL B R, ANGELI J P F, BAYIR H, *et al.* Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.021.
- [38] YANG J J, ZHOU Y L, XIE S D, *et al.* Metformin induces Ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 206. DOI: 10.1186/s13046-021-02012-7.
- [39] VIAL G, DETAILLE D, GUIGAS B. Role of mitochondria in the mechanism(s) of action of metformin[J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 294[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31133988/>. DOI: 10.3389/fendo.2019.00294.
- [40] NISHIDA M, YAMASHITA N, OGAWA T, *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species trigger metformin-dependent antitumor immunity *via* activation of Nrf2/mTORC1/p62 axis in tumor-infiltrating CD8T lymphocytes[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(9): e002954[2023-12-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8449974/>. DOI: 10.1136/jitc-2021-002954.
- [41] TAY R E, RICHARDSON E K, TOH H C. Revisiting the role of CD4⁺ T cells in cancer immunotherapy-new insights into old paradigms[J]. *Cancer Gene Ther*, 2021, 28(1/2): 5-17. DOI: 10.1038/s41417-020-0183-x.
- [42] HEWITT S L, BAILEY D, ZIELINSKI J, *et al.* Intratumoral IL12 mRNA therapy promotes TH1 transformation of the tumor microenvironment[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(23): 6284-6298. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-0472.
- [43] SHOWALTER L, CZERNIECKI B J, KOSKI G K. Th1 cytokines in conjunction with pharmacological Akt inhibition potentiate apoptosis of breast cancer cells *in vitro* and suppress tumor growth *in vivo*[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(30): 2873-2888. DOI: 10.18632/oncotarget.27556.
- [44] 姜皓然. 二甲双胍对乳腺癌荷瘤小鼠免疫状态的影响和抗肿瘤作用的研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2022.
- [45] TSUKIOKI T, SHIEN T, TANAKA T, *et al.* Influences of preoperative metformin on immunological factors in early breast cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2020, 86(1): 55-63. DOI: 10.1007/s00280-020-04092-2.
- [46] BISWAS S K, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 889-896. DOI: 10.1038/ni.1937.
- [47] ZONG Z Y, ZOU J H, MAO R D, *et al.* M1 macrophages induce PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma cells through IL-1 β signaling[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1643[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31379842/>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01643.
- [48] JIANG H, SUO H, GAO L, *et al.* Metformin plays an antitumor role by downregulating inhibitory cells and immune checkpoint molecules while activating protective immune responses in breast cancer[J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118: 110038[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36996738/>. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110038.
- [49] MA Q, GU J T, WANG B, *et al.* PIGF signaling and macrophage repolarization contribute to the anti-neoplastic effect of metformin [J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 863: 172696[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31562866/>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172696.
- [50] INCIO J, SUBOJ P, CHIN S M, *et al.* Metformin reduces desmoplasia in pancreatic cancer by reprogramming stellate cells and tumor-associated macrophages[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0141392[2023-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4671732/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0141392.
- [51] POTO R, CRISTINZIANO L, MODESTINO L, *et al.* Neutrophil extracellular traps, angiogenesis and cancer[J/OL]. *Biomedicines*, 2022, 10(2): 431[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28057046/>. DOI: 10.3390/biomedicines10020431.
- [52] ETHIER J L, DESAUTELS D, TEMPLETON A, *et al.* Prognostic

- role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. *Breast Cancer Res*, 2017, 19(1): 2 [2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28057046/>. DOI: 10.1186/s13058-016-0794-1.
- [53] PAPAYANNOPOULOS V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(2): 134-147. DOI: 10.1038/nri.2017.105.
- [54] LEE W, KO S Y, MOHAMED M S, *et al.* Neutrophils facilitate ovarian cancer premetastatic niche formation in the omentum[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(1): 176-194. DOI: 10.1084/jem.20181170.
- [55] MENEGAZZO L, SCATTOLINI V, CAPPELLARI R, *et al.* The antidiabetic drug metformin blunts NETosis *in vitro* and reduces circulating NETosis biomarkers *in vivo*[J]. *Acta Diabetol*, 2018, 55(6): 593-601. DOI: 10.1007/s00592-018-1129-8.
- [56] DE A, KUPPUSAMY G. Metformin in breast cancer: preclinical and clinical evidence[J/OL]. *Curr Probl Cancer*, 2020, 44(1): 100488[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31235186/>. DOI: 10.1016/j.currprobcancer.2019.06.003.
- [57] CHENG T T, WANG C, QIAN QIAN LU Q Q, *et al.* Metformin inhibits the tumor-promoting effect of low-dose resveratrol, and enhances the anti-tumor activity of high-dose resveratrol by increasing its reducibility in triple negative breast cancer[J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 180: 108-120. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.01.010.
- [58] SCORDAMAGLIA D, CIRILLO F, TALIA M, *et al.* Metformin counteracts stimulatory effects induced by insulin in primary breast cancer cells[J/OL]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 263[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35672854/>. DOI: 10.1186/s12967-022-03463-y.
- [59] XIAO Y, WANG S, ZONG Q Y, *et al.* Co-delivery of metformin and paclitaxel *via* folate-modified pH-sensitive micelles for enhanced anti-tumor efficacy[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2018, 19(5): 2395-2406. DOI: 10.1208/s12249-018-1070-8.
- [60] ZHAO M Y, WANG Y Y, DU C, *et al.* Aspirin and metformin exhibit antitumor activity in murine breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3): 1414-1422. DOI: 10.3892/or.2018.6190.
- [61] CHENG L, ZHANG X, HUANG Y Z, *et al.* Metformin exhibits antiproliferation activity in breast cancer *via* miR-483-3p/METTL3/m6A/p21 pathway[J/OL]. *Oncogenesis*, 2021, 10: 7[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33431790/>. DOI: 10.1038/s41389-020-00290-y.
- [62] REPAS J, ZUPIN M, VODLAN M, *et al.* Dual effect of combined metformin and 2-deoxy-D-glucose treatment on mitochondrial biogenesis and PD-L1 expression in triple-negative breast cancer cells [J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(5): 1343[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35267651/>. DOI: 10.3390/cancers14051343.
- [63] GOODWIN P J, CHEN B E, GELMON K A, *et al.* Effect of metformin vs placebo on invasive disease-free survival in patients with breast cancer[J/OL]. *JAMA*, 2022, 327(20): 1963[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35608580/>. DOI: 10.1001/jama.2022.6147.
- [64] VALABREGA G, MONTEMURRO F, AGLIETTA M. Trastuzumab: mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(6): 977-984. DOI: 10.1093/annonc/mdl475.
- [65] LUO L Y, ZHANG Z J, QIU N, *et al.* Disruption of FOXO3a-miRNA feedback inhibition of IGF2/IGF-1R/IRS1 signaling confers Herceptin resistance in HER2-positive breast cancer[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2699[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33976188/>. DOI: 10.1038/s41467-021-23052-9.
- [66] WANG J, HUANG Q, HU X B, *et al.* Disrupting circadian rhythm *via* the PER1-HK2 axis reverses trastuzumab resistance in gastric cancer[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(8): 1503-1517. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-1820.
- [67] SHARMA P, ALLISON J. The future of immune checkpoint therapy [J]. *Science*, 2015, 348: 56-61. DOI: 10.1126/science.aaa8172.
- [68] WALKER L S K, SANSOM D M. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(12): 852-863. DOI: 10.1038/nri3108.
- [69] HAN Y, LI C W, HSU J M, *et al.* Metformin reverses PARP inhibitors-induced epithelial-mesenchymal transition and PD-L1 upregulation in triple-negative breast cancer[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(4): 800-815[2023-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6511636/>.
- [70] XUE J, LI L, LI N, *et al.* Metformin suppresses cancer cell growth in endometrial carcinoma by inhibiting PD-L1[J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 859: 172541[2023-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31319067/>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172541.
- [71] CHA J H, YANG W H, XIA W Y, *et al.* Metformin promotes antitumor immunity *via* endoplasmic-reticulum-associated degradation of PD-L1 [J]. *Mol Cell*, 2018, 71(4): 606-620. e7. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.07.030.
- [72] ZHANG J J, ZHANG Q S, LI Z Q, *et al.* Metformin attenuates PD-L1 expression through activating Hippo signaling pathway in colorectal cancer cells[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(11): 6965-6976[2023-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6895520/>.
- [73] ZHANG Z, LI F, TIAN Y G, *et al.* Metformin enhances the antitumor activity of CD8⁺T lymphocytes *via* the AMPK-miR-107-eomes-PD-1 pathway[J]. *J Immunol*, 2020, 204(9): 2575-2588. DOI: 10.4049/jimmunol.1901213.

[收稿日期] 2023-08-11

[修回日期] 2023-12-07

[本文编辑] 党瑞山