

二甲双胍抗肿瘤机制研究进展

崔琳琳¹, 王洋¹, 关桦楠², 袁甜¹, 申光焕¹

(1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江省预防与治疗老年病药物研究重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150076)

(2. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘要: 二甲双胍是治疗 2 型糖尿病药物 (T2DM) 的一线药物, 近年来, 其也作为潜在的抗肿瘤药物, 被人们进行了广泛的研究。目前了解的二甲双胍抗肿瘤机制多种多样, 二甲双胍可以通过 AMPK 直接或间接调节 LKB1/AMPK/mTOR 信号通路, 诱导 ACC 磷酸化。也可以通过 AMPK 的非依赖机制抑制胰岛素受体/IGF-IR 信号通路, 诱导细胞自噬和凋亡、上调 Micro RNAs, 以及调节 P53/REDD1 通路、免疫作用、氧化作用、协同药物治疗等多种机制抑制肿瘤生长。本文将对近年来二甲双胍可能产生的抗肿瘤机制进行分类综述, 为其日后相关研究奠定理论基础。

关键词: 二甲双胍; 抗肿瘤; 机制研究

文章篇号: 1673-9078(2021)08-357-363

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.8.1155

Research Progress on the Antitumor Mechanism of Metformin

CUI Lin-lin¹, WANG Yang¹, GUAN Hua-nan², YUAN Tian¹, SHEN Guang-huan¹

(1.College of Pharmacy, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Prevention and Treatment of Geriatric Drugs, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

(2.College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: Metformin is a first-line drug for the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM). In recent years, it has been widely studied as a potential anti-tumor drug. There are various anti-tumor mechanisms currently known for metformin. Metformin can directly or indirectly regulate the LKB1/AMPK/mTOR signaling pathway *via* AMPK to and induce ACC phosphorylation. Metformin can also inhibit the insulin receptor/IGF-IR signaling pathway *via* an AMPK-independent mechanism, induce autophagy and apoptosis, up-regulate Micro RNAs, and suppress tumor growth through regulating the P53/REDD1 pathway, exerting immune function, undergoing oxidation, and acting as a synergistic drug therapy. In this paper, the possible anti-tumor mechanisms of metformin in recent years are classified and summarized, which lays a good theoretical foundation for related research in the future.

Key words: metformin; antitumor; mechanism study

引文格式:

崔琳琳,王洋,关桦楠,等.二甲双胍抗肿瘤机制研究进展[J].现代食品科技,2021,37(8):357-363

CUI Lin-lin, WANG Yang, GUAN Hua-nan, et al. Research progress on the antitumor mechanism of metformin [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 357-363

二甲双胍 ($C_4H_{11}N_5$), 见图 1, 是从豆科植物中提取的天然化合物, 于 1957 年首次被报道为治疗糖尿病药物, 至今已有 60 多年的历史^[1]。目前, 在临床上二甲双胍已被作为治疗 2 型糖尿病的一线药物。二甲

收稿日期: 2020-12-13

基金项目: 黑龙江省留学回国人员择优资助项目 (18930101); 哈尔滨商业大学青年创新人才项目 (17XN031); 哈尔滨商业大学博士科研启动项目 (2019DS116)

作者简介: 崔琳琳(1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物结构修饰及活性

通讯作者: 申光焕 (1983-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物结构修饰及活性

双胍是一种亲水型化合物, 在生理条件下以正电荷形式存在, 需要有阳离子膜运转体来摄取细胞^[2]。主要载体溶质载体 (SLC) 家族, 其中包括 SLC22A1、SLC22A3、SLC22A4。近年来普遍认为二甲双胍降糖作用的主要靶点是线粒体^[3], 二甲双胍主要通过各种组织细胞内特异性抑制线粒体呼吸链酶复合体 I, 从而抑制肝脏的糖异生, 促进脂肪酸氧化, 改善胰岛素敏感性, 降低血糖水平, 从分子水平发挥作用^[4]。

二甲双胍除治疗 2 型糖尿病之外, 其抗肿瘤作用也被广泛研究。关于二甲双胍有抗肿瘤作用, 最先源于研究糖尿病和糖尿病治疗与癌症的关系的人口调查中, 研究人员发现尽管患有糖尿病的癌症患者死亡率

较高,但与其他药物治疗相比,使用二甲双胍更能降低其对癌症的负担^[5]。同时也有研究通过对比二甲双胍与磺脲类或胰岛素治疗组发现,二甲双胍治疗组的2型糖尿病患者肿瘤相关发病率及病死率均显著低于其余两组。其中 Bowker^[6]等调查发现服用二甲双胍降糖患者的肿瘤相关死亡率明显低于使用磺脲类降糖药物或胰岛素的患者。Evans, Libby^[7,8]等也发现,2型糖尿病患者服用二甲双胍治疗可降低其肿瘤发生风险。近期 Cancer Cell 刊登了一篇文章,研究人员发现在禁食状态下使用二甲双胍可以显著抑制肿瘤生长,并发现治疗肿瘤的新靶点,PP2A 的抑制靶点^[9]。近年来人们对二甲双胍类作用机制的研究屡有新的发现,本篇综述将根据前人报道进行归纳总结,更系统的对二甲双胍抗肿瘤作用产生的机制进行综述,为其日后应用于抗肿瘤治疗方面奠定良好的理论基础。

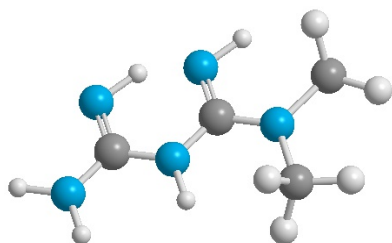


图1 二甲双胍结构式

Fig.1 The structure of metformin

1 AMPK 依赖的机制

AMPK 即 AMP 依赖的蛋白激酶,由一个催化亚基 (α) 和两个调节亚基 (β 和 γ) 组成,是参与细胞代谢的能量传感器,也是脂糖代谢,细胞生长,自噬和凋亡等关键细胞过程的主要调节因子之一。AMPK 广泛的代谢途径主要包括 ATP 的消耗途径、ATP 的生成途径,以及参与细胞调控和线粒体生物生成过程^[10]。关于 AMPK 的代谢途径还有许多问题需要我们解决。但目前据我们所知道,激活该途径主要有两种方式包括直接激活和间接激活。

1.1 激活 AMPK 依赖的直接途径

AMPK 蛋白均以一种异源三聚体复合物的形式存在,其中 α -亚基 N-末端包含一个保守的 Ser/Thr 激酶区,包含一个保守的苏氨酸 (Thr-172) 位点,该位点的磷酸化是其激酶活性所必需的。AMPK 主要被细胞内 AMP 水平的增加所激活,通过 AMP 与 γ 调节亚基结合,使 AMP/ATP 比例增大,从而导致构像改变,抑制 α 亚基上的 Thr-172 去磷酸化。肝激酶 B1 (LKB1, 又称 SKT11) 是 AMPK 的上游作用因子, LKB1 能够直接激活 AMPK 并促进 α 亚基的 172 位苏氨酸磷

酸化,而后者正是 Peutz-Jeghers 癌综合征中肿瘤抑制基因突变的蛋白产物^[11],也间接证明了二甲双胍的抗癌作用。同时有研究发现此方式也是二甲双胍激活 AMPK 所必需的,研究显示哺乳动物细胞中缺乏 LKB1 基因时,二甲双胍不能激活 AMPK,但 ATM 可以通过磷酸化使 LKB1 其活化,而活化的 LKB1 又可直接磷酸化 AMPK α 亚基的 172 位苏氨酸而激活 AMPK^[12]。

1.2 激活 AMPK 依赖的间接途径

二甲双胍也可以通过磷酸化间接激活 AMPK, Ben 等^[13]在前列腺癌和卵巢癌细胞体外实验表明, LKB1-AMPK 轴是二甲双胍诱导的组蛋白和非组蛋白乙酰化过程,通过 AMPK 磷酸化介导抑制乙酰化辅酶 A 羧化酶 (ACC)。磷酸化是使 ACC 失活促进脂肪酸氧化机制之一。二甲双胍通过磷酸化间接激活 AMPK,使 ACC 失活,抑制脂生成酶的表达。同时,有研究表明磷酸化可以抑制固醇调节元件结合蛋白 1 (SREBP1) 的表达,对细胞膜表面调节细胞死亡信号分子 (fas) 和核糖蛋白 (S14) 等酯酶也有下调的作用^[14]。另外也有研究发现乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 为 AMPK 的下游信号因子,二甲双胍也可以通过激活 AMPK 来磷酸化 ACC,引起细胞的细胞周期 G1 期阻滞,抑制细胞增殖^[15]。

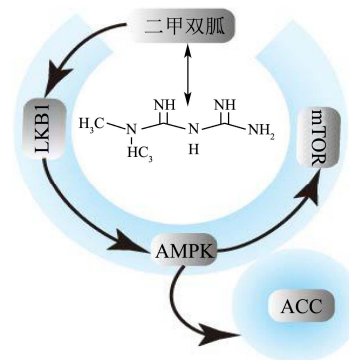


图2 AMPK 依赖的机制

Fig.2 Mechanism of AMPK dependence

mTOR (雷帕霉素靶蛋白) 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, mTOR 含有两种复合体,分别为 mTORC1 和 mTORC2。相比较而言, mTORC1 发挥着更为重要的作用, mTORC2 构成的信号通路较为简单。mTOR 信号在绝大多数肿瘤中被激活,而且活化的 mTOR 蛋白与肿瘤的恶性进程、不利预后以及化疗和靶向治疗耐药密切相关^[16]。关于 mTOR 的信号通路,其主要包括 PI3K/AKT/mTOR 和 LKB1/AMPK/mTOR 两条关键通路,其中 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,包含 3 个关键蛋白分子,即 PI3K、AKT、mTOR,然而此信号通路

在人类肿瘤细胞中往往是失控的,促使肿瘤细胞的快速生长和增殖。另一条通路即 LKB1/AMPK/mTOR 信号通路, LKB1 能够通过磷酸化的方式激活 AMPK,活化的 AMPK 可以激活肿瘤抑制基因结节性硬化复合物 2 (TSC2),进而实现对 mTOR 的负性调控。二甲双胍可以激活 AMPK,促使 mTOR 下游的分子磷酸化失活:翻译起始因子 4E 结合蛋白 (4E-binding proteins, 4E-BPs)和核糖体 S6 激酶 (ribosomal protein S6 kinases, S6Ks),抑制肿瘤细胞蛋白的合成^[17]。同时也抑制了 PI3K-PKB/AKT 信号通路,从而抑制肿瘤细胞的生长和增殖^[18]。二甲双胍对 mTOR 及其下游的靶点的抑制并非必须 AMPK 的参与。如 Zhang 等^[19]发现,二甲双胍通过下 mTOR/S6K1 介导的 c-FLIP,从而增强膀胱癌细胞对 TRAIL 诱导凋亡的敏感性,在此过程中 mTOR 和 S6K1 的表达降低,然而用 AMPK 抑制剂处理后并未影响二甲双胍对 mTOR 和 S6K1。

2 AMPK 非依赖的机制

2.1 抑制胰岛素受体/胰岛素样生长因子-1 受体信号通路

胰岛素受体通常在正常脂肪、肌肉和肾组织中有较高表达^[20]。然而近年在乳腺癌细胞^[21]、前列腺癌细胞^[22]中也发现了胰岛素受体的过表达,研究发现胰岛素通过与胰岛素受体结合后产生的抗凋亡和促有丝分裂效应,促进肿瘤生长,其主要通过生长因子受体结合蛋白 2 传递信号到 Ras/Raf/ERK 形成 IR/GRB2/Ras/Raf/ERK 通路,促进有丝分裂和生长刺激的作用,导致肿瘤细胞有丝分裂的作用增强^[23]。

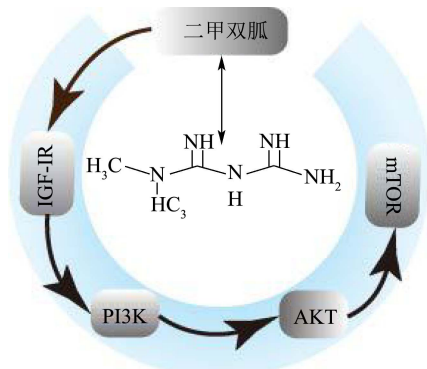


图3 抑制胰岛素受体/胰岛素样生长因子-1 受体信号通路

Fig.3 Inhibition of insulin receptor/ insulin-like growth factor-1 receptor signaling pathway

作为一种在质膜中的受体,酪氨酸激酶胰岛素样生长因子-1 受体 (IGF-IR),它可以介导 IGF-1 参与促进蛋白质增殖和细胞凋亡等。目前,IGF-IR 受体

受到广泛关注,有研究证明 IGF-IR 介导的信号转导通路可以促有丝分裂活性,防止细胞凋亡,使正常细胞向恶性细胞转化。同时也发现 IGF-IR 表达持续增高是乳腺癌、胰腺癌、结肠癌、肺癌发生的危险因子^[24]。IGF-1 可与 IGF-1R 结合后,激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3Ks),紧接着 PI3K 激活 AKT,形成 IGF-1/PI3K/AKT 通路,促进细胞生长。二甲双胍主要通过调节葡萄糖代谢内环境的平衡作用逆转 2 型糖尿病和非糖尿病患者的高胰岛素血症,然而二甲双胍抗增殖作用的发挥可能正是通过此机制。有研究显示,二甲双胍具有粘和下调胰岛素受体、下调胰岛素和 IGF-1 受体的量,从而作用于肿瘤细胞发挥抗肿瘤作用^[25]。二甲双胍也能够通过降低胰岛素和胰岛素结合蛋白间接抑制 IGF-1,从而有效的干扰 IGF 信号通路作用的发挥,尤其是在肿瘤细胞中,二甲双胍能够有效的通过调控该通路抑制肿瘤细胞的生长^[26]。Memmott 等^[27]研究发现二甲双胍可通过该通路间接降低雷帕霉素靶蛋白导致肿瘤细胞生长受到抑制,这主要与其下调 IGF-1 受体/胰岛素受体/Akt 通路有关。

2.2 Micro RNAs

Micro RNAs (miRNAs) 作为内源性基因编码的非编码 RNA 分子,其长度约为 22 个核苷酸。近年来,二甲双胍通过调节 Micro RNAs (miRNAs) 而抑制肿瘤的生长得到了广泛的关注。有研究发现,对不同类型癌症的 miRNAs,二甲双胍对其有不同的影响。例如,在乳腺癌中,二甲双胍可以通过诱导 miRNA-193 家族成员上调,从而杀死三阴性乳腺癌细胞^[28]。同时也有研究发现,二甲双胍在肾细胞癌中可以通过 miRNA-193 的介导 PTEN 表达抑制细胞生长^[29]。此外,有研究发现二甲双胍可以通过多个细胞通路,进而激活 AMPK^[30],我们可以猜测 AMPK 也可能作用于小鼠 miRNAs 的上游。同时 miRNAs 作为 T 细胞分化和功能的调控因子,在肿瘤生长增殖中具有关键作用。有研究表明二甲双胍具有增强 CD8+T 细胞的抗肿瘤能力^[31]。

2.3 免疫作用

在免疫作用中二甲双胍主要可以通过对先天免疫系统和适应性免疫系统两方面产生影响。

2.3.1 先天免疫系统

先天免疫系统是我们防御系统产生信号的第一道免疫防线,这些信号主要由数量有限生殖细胞编码的模式识别受体 PRRSI 来识别。二甲双胍在各种细胞群中主要通过影响中性粒细胞,巨噬细胞和髓源性抑制

细胞来抑制肿瘤增殖。有研究表明二甲双胍可以诱导细胞 M2 向 M1 分化, 并抑制巨噬细胞 M2 极化^[32], 这也证实了细胞可能从免疫抑制型向免疫刺激型转变的猜想。同时有实验报告还显示, 促肿瘤细胞的炎症因子水平也明显降低^[33]。

2.3.2 适应性免疫系统

适应性免疫系作为抵御病原体的第二道防线, 其主要是对个体抗原进行特异性识别。二甲双胍在第二道防线中主要影响的是 T 细胞, 抗原可以通过识别导致 T 细胞分化为效应 T 细胞, 其中包括 T 辅助细胞和细胞毒性 T 细胞^[34]。此外抗原也可以激活记忆 T 细胞, 在再次遇到特定抗原时会加强次级免疫反应。另外 T 细胞还能激活发挥免疫抑制功能的调节性 T 细胞。

2.4 抗血管生成

血管生成介导心血管的生成是肿瘤形成的标志, 血管生成抑制剂在肿瘤治疗中已成为一种干预手段。因此抗肿瘤药物 (AADs) 也得到广泛的发展, 也成为一种主要的抗癌药物。AADs 主要的抗癌机制有两种说法, 一种通过抑制肿瘤血管生成阻断血液供应从而杀死癌细胞。另一种说法则是使“血管正常化”, AADs 不仅可以抑制肿瘤生长和转移, 还可以提高肿瘤血管的成熟度和功能, 提高化疗的增敏性, 改善肿瘤缺氧^[35]。同时, 有众多研究表明二甲双胍具有抗肿瘤血管生成的作用。从众多文献中我们发现二甲双胍对两种机制似乎都有作用。在临床评估中, 有研究者发现, 在切除肝癌的糖尿病患者后, 大部分患者血管内皮生长因子在肿瘤中的表达明显减弱, 同时 p-mTOR, CCND, 核糖蛋白 S6 激酶 (B1RPS6KB1) 也有所下调^[36]。除此之外有研究发现二甲双胍可以抑制转移性乳腺癌的进展, 并通过血管机制诱导化疗增敏性。并发现二甲双胍可以减低肿瘤 PDGF-B, 抑制过度血管生成, 提高血管成熟度和功能^[37]。

2.5 抑制上皮间质转化 (EMT) 作用

上皮间质转化 (EMT) 是一个高度保守的发育过程, 上皮细胞在特定的生理和病理情况下可以向间质细胞进行转分化。上皮间质转化是促进肿瘤细胞进展中关键的过程, 其可以调节癌细胞的侵袭、META 转移和治疗耐药性。TGF β 信号通路是促进肿瘤发展的重要途径, 具有调控细胞生长、分化、凋亡、血管生产和转移等多种功能, 而且其在抑制上皮间质转化 (EMT) 中扮演重要角色。其中 TGF β 信号通路可以抑制细胞凋亡, 同时诱导两个 EMT 诱导基因 Snail 家族的主要成员, Snail1 和 Snail2 的表达^[38]。而二甲双

胍可以抑制 TGF β 1 诱导 Snail 家族磷酸化, 同时还抑制纤维连接蛋白, 结缔组织生长因子和白细胞介素 6 的表达。并且也有研究发现二甲双胍可以通过靶向信号传导和转移因子 3 以及转移因子 β 1/Smad 信号通路抑制 EMT, 影响分子转录, 抑制肿瘤细胞增殖^[39]。

2.6 P53/Redd1 通路

有研究表明二甲双胍在正常情况下比 P53 受损状态更能抑制癌细胞增殖。并且发现 P53 的状态可以影响二甲双胍的效率^[40]。DNA 损伤诱导转录子 4 (Redd1) 是 P53 的直接靶点, P53/Redd1 可以不用通过 AMPK 机制, 并且使 mTORC1 下调。正常情况下, P53 的存在可以使二甲双胍上调 Redd1m 诱导 TORC1 的抑制机制和细胞周期阻滞, 其表达主要与抑制 mTOR 有关。

2.7 诱导细胞自噬和凋亡

二甲双胍自噬在肿瘤生长过程中扮演重要角色, 二甲双胍可以通过自噬调节炎症因子, 改善细胞代谢状态, 抑制肿瘤生长。有研究发现黑色素瘤在使用二甲双胍后, 在电镜, 荧光免疫, LC3 蛋白比例观察中均出现自噬现象。但是二甲双胍的自噬作用, 本身也会促使肿瘤细胞生长^[41]。我们猜想这主要与细胞生存的微环境有关。同时二甲双胍可以上调细胞周期素依赖性抑制剂 (P21), 使细胞阻滞在 G1 期和 G2/M 期, 促使细胞凋亡。有研究表明二甲双胍可以通过 c-FLIP 蛋白的降解和 caspase-8 的激活诱导细胞凋亡, caspase-8 可以激活导致死亡诱导的信号复合物 Diss, 促进细胞凋亡^[42]。同时也有研究表明在肺癌和膀胱癌中, 二甲双胍能抑制 c-FLIP 蛋白的表达^[43]。

2.8 氧化性

大部分人认为二甲双胍抗肿瘤和化疗增敏作用是通过 AMPK 和抑制 ATK-mTOR 通路来实现。然而我们认为这些还不能证明肿瘤化疗增敏作用, 在不同细胞中, 二甲双胍还可以引起氧化应激性, 增加 ROS 生成。一般来说, 细胞氧化剂和氧化还原稳态受抗氧化系统调节, 而 Nrf2 是调节抗氧化和代谢基因的关键转录因子。同时, 也有研究发现, 二甲双胍可以降低 Nrf2mRNA 的表达^[44], 因此我们可以猜测 Nrf2mRNA 的下调可以引起氧化生成增加, 导致线粒体功能紊乱。并且也有研究发现二甲双胍在乳腺癌线粒体损伤时可以增加 ROS 形成^[45]。

2.9 协同化疗药物治疗

化疗方案中加入二甲双胍主要用于提高药物的敏感性。一些体内体外实验已经探索了二甲双胍与各种抗癌药物的组合,优化和调整出更完善的方案。例如,在人为胃癌和食道癌细胞系和异种小鼠模型中,二甲双胍联合 2DG 抑制能量通路,促使细胞死亡,ATP 下调,使 AMPK 激活时间延长。同时,二甲双胍与 2DG 联用,在抑制细胞增殖和诱导细胞脱离上比单一给药效果更强。在直肠癌中,奥沙力联合二甲双胍可以协同细胞毒性,限制存活调节因子高迁移率盒(HMGB1)的表达^[46]。并且也有研究表明在胃癌中二甲双胍可以抑制 HIF1 α ,通过 HIF1 α /PKM2 信号通路诱导细胞凋亡,但其具体机制还有待研究^[47]。同时也有研究表明在乳腺癌中,与二甲双胍联用可以增强

其耐药性,例如二甲双胍与他莫昔芬联用可以克服抵抗,增强敏感性。二甲双胍联合多柔吡星,可以增强化疗敏感性,使肿瘤体积减少,延长生命时间^[48]。此外,二甲双胍与紫杉醇联合应用还可以增强抗癌率,并且与其浓度成正比。综上所述可知由于二甲双胍良好的耐受性,将二甲双胍作为治疗佐剂与多种治疗方式结合,可以促进肿瘤治疗效果。但由于肿瘤细胞的代谢可塑性,靶向特定的代谢通路并不能有效地抑制肿瘤,不过近期有研究发现联合间歇性禁食和二甲双胍能够同时抑制肿瘤细胞的糖酵解和氧化磷酸化^[49]。在这样的前提下不仅二甲双胍可以单独使用会产生治疗效果,而且其他治疗方法联合使用也具有潜在临床应用前景。

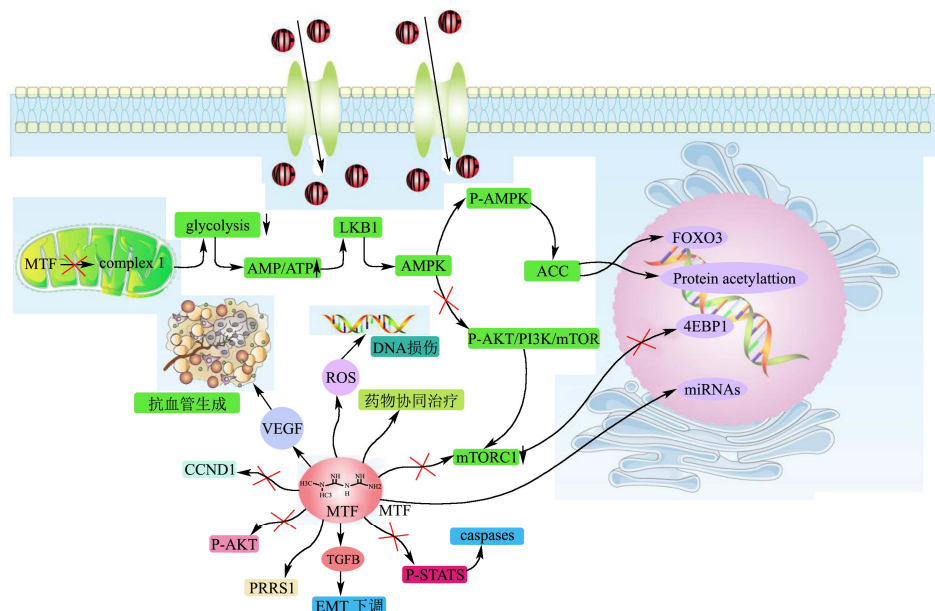


图 4 二甲双胍抗肿瘤机制总图

Fig.4 Overview of anti-tumor mechanism of metformin

3 结语

虽然随着肿瘤研究的不断深入,二甲双胍除作为一线的降糖药物外,其抗肿瘤作用机制也得到了大量研究报道,但其也存在很多尚不明确的地方,临床上也未实际应用。不过二甲双胍作为一种新型的抗肿瘤药物,随着研究人员的不断深入探究,有很大的可能性可以应用于临床,为肿瘤的预防和治疗提供了新的方法。因此深入研究二甲双胍的抗肿瘤机制,揭示其作用特点,将为二甲双胍抗肿瘤的临床应用奠定理论基础。

参考文献

[1] Bailey, Clifford J. Metformin: historical overview [J]. Diabetologia, 2017, 60(9): 1566-1576

[2] Lin S C, Hardie D G. AMPK: Sensing glucose as well as cellular energy status [J]. Cell Metabolism, 2018, 27(2): 299-313

[3] Kooy A, De Jager J, Lehert P, et al. Long-term effects of metformin on metabolism and microvascular and macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Archives of Internal Medicine, 2010, 169(6): 616

[4] Marcucci F, Rumio C. Glycolysis-induced drug resistance in tumors - a response to danger signals [J]. Neoplasia (New York, N.Y.), 2021, 23(2): 234-245

[5] Pierotti M A, Berrino F, Gariboldi M, et al. Targeting metabolism for cancer treatment and prevention: metformin, an old drug with multi-faceted effects [J]. Oncogene, 2013: 1475-1487

[6] Bowker S L, Majumdar S R, Veugelers P, et al. Increased

- cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin [J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(2): 254-258
- [7] Duan W, Chen K, Jiang Z, et al. Desmoplasia suppression by metformin-mediated AMPK activation inhibits pancreatic cancer progression [J]. *Cancer Letters*, 2016, 385: 225
- [8] Fogarty S, Ross F A, Vara Ciruelos D, et al. AMPK causes cell cycle arrest in Ikb1-deficient cells via activation of CAMKK2 [J]. *Molecular Cancer Research*, 2016: 1541-7786
- [9] Elgendy M, M Cirò, Hosseini A, et al. Combination of Hypoglycemia and Metformin Impairs Tumor Metabolic Plasticity and Growth by Modulating the PP2A-GSK3 β -MCL-1 Axis [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(13): 798-815
- [10] Lei Y, Yi Y, Liu Y, et al. Metformin targets multiple signaling pathways in cancer [J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2017, 36(1): 289-297
- [11] R J, Shaw, et al. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101:3329-3335
- [12] Duque J E, Catalina López, Cruz N. Antitumor mechanisms of metformin: signaling, metabolism, immunity and beyond [J]. *Universitas Scientiarum*, 2010, 15(2): 122-129
- [13] Ben S I, Regazzetti C, Robert G, et al. Metformin, independent of AMPK, induces mTOR inhibition and cell-cycle arrest through REDD1 [J]. 2011, 71(13): 4366-4372
- [14] Arito M, Horiba T, Hachimura S, et al. Growth factor-induced phosphorylation of sterol regulatory element-binding proteins inhibits sumoylation, thereby stimulating the expression of their target genes, low density lipoprotein uptake, and lipid synthesis [J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2003, 6(5): 589-592
- [15] Duan W, Chen K, Jiang Z, et al. Desmoplasia suppression by metformin-mediated AMPK activation inhibits pancreatic cancer progression [J]. *Cancer Lett*, 2017, 385: 225-233
- [16] Hua L, Liqin Z, Xuyan Z, et al. PI3K/AKT/mTOR pathway promotes progesterin resistance in endometrial cancer cells by inhibition of autophagy [J]. *Oncotargets & Therapy*, 2017, 10: 2865-2871
- [17] de Melo Andréia Cristina, Eduardo P, Garces Álvaro Henrique Ingles. A review of mTOR pathway inhibitors in gynecologic cancer [J]. *Oxidative Medicine & Cellular Longevity*, 2017, 2017: 4809751
- [18] Alalem M, Ray A, Ray B K. Metformin induces degradation of mTOR protein in breast cancer cells [J]. *Cancer Med*, 2016, 5: 3194-3204
- [19] Zhang T, Wang X, He D, et al. Metformin sensitizes human bladder cancer cells to TRAIL-induced apoptosis through mTOR/S6K1-mediated downregulation of c-FLIP [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2014, 25(8): 887-897
- [20] Vial G, Detaille D, Guigas B. Role of mitochondria in the mechanism (s) of action of metformin [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2019, 10: 294
- [21] S P Zaleto, L Gulua, L Wicker, et al. Green tea, red wine and lemon extracts reduce experimental tumor growth and cancer drug toxicity [J]. *Experimental Oncology*, 2015, 37(4): 262-271
- [22] Prattichizzo F, Giuliani A, Sabbatinelli J, et al. Extracellular vesicles circulating in young organisms promote healthy longevity [J]. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2019, 8(1): 1656044
- [23] Paola D M, Francesca C, Adele V, et al. Novel aspects concerning the functional cross-talk between the insulin/IGF-I system and estrogen signaling in cancer cells [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2015, 6: 30
- [24] Yin Cao, Katharina Nimptsch, Irene M Shui, et al. Prediagnostic plasma IGFBP-1, IGF-1 and risk of prostate cancer [J]. *International Journal of Cancer Journal International Du Cancer*, 2015, 136(10): 2418-2426
- [25] Dong J, Peng H, Yang X, et al. Metformin mediated microRNA-7 upregulation inhibits growth, migration, and invasion of non-small cell lung cancer A549 cells [J]. *Lippincott Williams & Wilkins Open Access*, 2020, 31(4): 345-352
- [26] Hadad S M, Hardie D G, Appleyard V, et al. Effects of metformin on breast cancer cell proliferation, the AMPK pathway and the cell cycle [J]. *Clin Transl Oncol*, 2014, 16(8): 746-752
- [27] Gou S, Cui P, Li X, et al. Low concentrations of metformin selectively inhibit CD133+ cell proliferation in pancreatic cancer and have anticancer action [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63969
- [28] Tian J, Rui K, Tang X, et al. MicroRNA-9 regulates the differentiation and function of myeloid-derived suppressor cells via targeting runx1 [J]. *The Journal of Immunology*, 2015, 195(3): 1301-1311
- [29] Wang J C, Sun X, Ma Q, et al. Metformin's antitumor and anti-angiogenic activities are mediated by skewing

- macrophage polarization [J]. *Cell Mol Med*, 2018, 22: 3825-383
- [30] Akondy R S, Fitch M, Edupuganti S, et al. Origin and differentiation of human memory CD8 T cells after vaccination [J]. *Nature*, 2017, 552: 362-367
- [31] Zhang Zhen, Li Feng, Tian Yonggui 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: 2575-2588
- [32] Zheng Y, Tian X, Wang T, et al. Long noncoding RNA Pvt1 regulates the immunosuppression activity of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice [J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 61
- [33] Li Jian, Wang Jiaojiao, Liu Weiwei, et al. *Escherichia coli* metformin protects from bleomycin-induced bactericide via enhanced generation of hydrogen peroxide [J]. *Free Radic Res*, 2020, 54: 64-75
- [34] Garrido M P, Vera C, Vega M, et al. Metformin prevents nerve growth factor-dependent proliferative and proangiogenic effects in epithelial ovarian cancer cells and endothelial cells [J]. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 2018, 10
- [35] Maehara Osamu, Ohnishi Shunsuke, Asano Ayaka, et al. Metformin regulates the expression of CD133 through the AMPK-CEBP β pathway in hepatocellular carcinoma cell lines [J]. *Neoplasia*, 2019, 21: 545-556
- [36] Valae S, Yaghoobi M M, Shamsara M. Metformin inhibits gastric cancer cells metastatic traits through suppression of epithelial-mesenchymal transition in a glucose-independent manner [J]. *Plos One*, 2017, 12(3): e0174486
- [37] Feng Y, Ke C, Tang Q, et al. Metformin promotes autophagy and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma by downregulating stat3 signaling [J]. *Cell Death & Disease*, 2014, 5(2): e1088
- [38] Wang J C, Li G Y, Li P P, et al. Suppression of hypoxia-induced excessive angiogenesis by metformin via elevating tumor blood perfusion [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 73892-904
- [39] Bykov V J N, Eriksson S E, Bianchi J, et al. Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 18(2): 89
- [40] Yoshida G J. Therapeutic strategies of drug repositioning targeting autophagy to induce cancer cell death: from pathophysiology to treatment [J]. *Journal of Hematology Oncology*, 2017, 10: 67
- [41] C A K A B, C Y A B, D B Y B C. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage [J]. *DNA Repair*, 2016, 42: 63-71
- [42] Cai X, Hu X, Tan X, et al. Metformin induced AMPK activation, G0/G1 phase cell cycle arrest and the inhibition of growth of esophageal squamous cell carcinomas *in vitro* and *in vivo* [J]. *Plos One*, 2015, 10(7): e0133349
- [43] Shin H S, Ko J, Kim D A, et al. Metformin ameliorates the phenotype transition of peritoneal mesothelial cells and peritoneal fibrosis via a modulation of oxidative stress [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 5690
- [44] Rizos C V, Elisaf M S. Metformin and cancer [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 705(1-3): 96-108
- [45] Kunisada Y, Eikawa S, Tomonobu N, et al. Attenuation of CD4+CD25+ regulatory T cells in the tumor microenvironment by metformin, a type 2 diabetes drug [J]. *Ebiomedicine*, 2017: 154-164
- [46] Urak R Z, Wong C L W, Budde E, et al. 640. Ex vivo AKT inhibition promotes the generation of potent CD19CAR T cells for adoptive immunotherapy [J]. *Molecular Therapy*, 2016, 24: S253-S254
- [47] Charo L M, Plaxe S C. Recent advances in endometrial cancer: a review of key clinical trials from 2015 to 2019 [J]. *F1000 Research*, 2019, 8: 849
- [48] Chu D, Wu J, Wang K, et al. Effect of metformin use on the risk and prognosis of endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Bmc Cancer*, 2018, 18(1): 438
- [49] Deng J, Peng M, Wang Z, et al. Novel application of metformin combined with targeted drugs on anticancer treatment [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110: 23-30