

二甲双胍抗膀胱癌药理机制的研究进展

谭晓勇^{1#}, 吴邦财^{2#}, 刘利权², 刘尧², 余俊杰^{2*}

1. 四川省宣汉县人民医院 药学部, 四川 达州 635000

2. 四川省眉山市人民医院 泌尿外科, 四川 眉山 620000

摘要: 二甲双胍已成为临床治疗2型糖尿病的一线口服降糖药, 最新研究表明二甲双胍除了能通过改善胰岛素抵抗、抑制肝脏糖异生等参与调节血糖水平外, 还能明显降低糖尿病患者中卵巢癌、肝癌、肺癌等多种癌症的发生率、复发率和死亡率。综述了二甲双胍能通过激活AMPK信号通路、诱导细胞周期停滞及细胞凋亡、抑制血管生成、抑制膀胱癌干细胞增殖、增强化疗药物等对膀胱癌细胞的疗效等多种分子机制产生抗膀胱癌的作用, 展望了其成为新一代治疗膀胱癌药物的可能。

关键词: 二甲双胍; 膀胱癌; 糖尿病; 作用机制

中图分类号: R977.7, R983 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)09-1886-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.09.034

Advance on pharmacological mechanism of metformin against bladder cancer

TAN Xiaoyong¹, WU Bangcai², LIU Liquan², LIU Yao², YU Junjie²

1. Department of Pharmacy, Xuanhan County People's Hospital, Dazhou 635000, China

2. Department of Surgical Urology, Meishan City People's Hospital, Meishan 620000, China

Abstract: Currently, metformin has become a first-line oral hypoglycemic agent for the treatment of type 2 diabetes mellitus. The latest research shows that metformin can not only play a role in regulating blood glucose level by improving insulin resistance and inhibiting liver gluconeogenesis, but also significantly reduce the incidence, recurrence and mortality of many types of cancer, such as ovarian cancer, liver cancer, and lung cancer in diabetic patients. This paper summarizes that metformin can produce anti-bladder cancer effects by activating AMPK signaling pathway, inducing cell cycle arrest and apoptosis, inhibiting angiogenesis, inhibiting the proliferation of bladder cancer stem cells, and enhancing the efficacy of chemotherapy drugs on bladder cancer cells and provides the possibility of metformin as a new drugs for the treatment of bladder cancer.

Key words: metformin; bladder cancer; diabetes mellitus; mechanism

国家卫生健康委员会颁发的膀胱癌诊疗规范(2018版)显示,全球范围内膀胱癌发病率位居所有恶性肿瘤第11位,死亡率位居所有肿瘤的第13位、位列男性恶性肿瘤第9位^[1]。晚期膀胱癌患者多采用以顺铂等化疗药物为基础的治疗方法,但不良反应较大,导致患者依从较低、疗效不明显。美国糖尿病学会和癌症学会联合发布的《糖尿病与癌症共识报告》揭示糖尿病能显著增加肝癌、子宫内膜癌、直肠癌、膀胱癌等的发生率和死亡率^[2]。

二甲双胍作为临床治疗2型糖尿病的一线药

品,具有改善胰岛素抵抗,降低血糖以及保护心血管等作用^[3]。近年来,越来越多的证据表明二甲双胍能显著降低糖尿病患者生殖、泌尿、消化、呼吸等系统中多种肿瘤的发生率、死亡率。Wang等^[4]研究发现持续使用二甲双胍能显著提高糖尿病罹患卵巢癌患者的生存率;Garrido等^[5]研究显示神经生长因子能显著增加卵巢上皮细胞和内皮细胞的增殖及血管生长,进而导致卵巢癌的进一步恶化;相反,二甲双胍能通过抑制卵巢上皮细胞的增殖和内皮细胞的血管生长效应,明显抑制卵巢癌的发生发展

收稿日期: 2019-03-17

#第一作者: 谭晓勇, 硕士研究生, 药师, 研究方向为临床药学。E-mail: 295248367@qq.com

吴邦财, 医师, 硕士研究生, 研究方向为泌尿外科。E-mail: 273136147@qq.com

*通信作者: 余俊杰, 副主任医师, 硕士研究生, 研究方向为泌尿外科。E-mail: yujunjie1231@sohu.com。

进程。来成军等^[6]利用体外肾癌细胞侵袭和迁移技术证实二甲双胍能明显抑制肾癌细胞786-0的增殖和侵袭,更进一步研究发现二甲双胍可能是通过激活AMPK/mTOR信号通路,进而下调基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)、MMP9蛋白的表达,从而抑制肾癌的侵袭和转移。

一项550 882例糖尿病患者的荟萃学分析发现使用二甲双胍的糖尿病患者能显著降低罹患肝癌的风险^[7]。Xin等^[8]研究显示二甲双胍能显著提高糖尿病合并胰腺癌患者的存活率。Jin等^[9]研究表明二甲双胍能通过抑制肺癌细胞中E2F8的表达,进而诱导肺癌细胞周期停滞在G₁期,从而对抗癌细胞增殖。有研究显示二甲双胍能使膀胱尿路上皮癌的复发率降低39%,癌症相关的死亡率降低44%^[10]。同样的结论在丁显飞^[11]的研究中得到证实。相反,Goossens等^[12]研究表明与磺酰脲类相比,二甲双胍治疗并不能明显降低2型糖尿病患者膀胱癌发病率。

综上,提示二甲双胍能否有效降低2型糖尿病患者膀胱癌的发病率还需更多的临床前瞻性队列研究加以验证。尽管如此,二甲双胍通过改善胰岛素抵抗、降低血糖以及抑制蛋白合成等多种生物学效应对膀胱癌产生显著的抑制作用,其抗肿瘤作用的部分信号通路及分子机制得到证实。本文就二甲双胍抗膀胱癌的分子机制进行综述,随着对二甲双胍抗肿瘤机制的深入研究,为临床预防、诊断、治疗糖尿病以及肿瘤等多种疾病提供新思路,为新药研发提供新的靶标。

1 激活腺苷酸活化蛋白激酶信号通路

腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是人体的重要能量调节器,在维持人体能量代谢平衡中扮演着十分重要的作用。二甲双胍的降糖效应是通过激活AMPK信号通路来实现的已成为国内外专家的共识。研究表明肿瘤细胞的快速繁殖、转移需要需要大量的能量的供给,提示二甲双胍可能通过活化AMPK信号通路,进而抑制肿瘤细胞的能量代谢,抑制肿瘤的增殖和转移。Peng等^[13]研究发现二甲双胍能通过激活AMPK信号通路,进而抑制蛋白激酶B(protein kinase B, AKT),细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)的磷酸化,从而抑制膀胱癌细胞的增殖和集落形成。更进一步,他们采用原位植入技术,将膀胱癌MB49细胞株植入到C57小鼠中,并将小鼠分组,采用不同剂量的二甲双胍

进行膀胱灌注,结果显示中等剂量[26、104 mg/(kg·d)]的二甲双胍能显著抑制植入肿瘤细胞的生长和转移,而大剂量二甲双胍[800 mg/(kg·d)]这一作用并不明显^[14]。

2 诱导细胞周期停滞及细胞凋亡

细胞从1次分裂结束到下1次分裂完成称为细胞周期,细胞周期是1个高度有序的过程,是每一个正常细胞增殖的必经之路,而肿瘤是一类以细胞无限增殖以及细胞周期紊乱为主要特征的疾病。最新研究显示,二甲双胍能诱导肿瘤细胞的增殖周期停滞,表现出抗肿瘤的活性。Pan等^[15]利用N-甲基亚硝基脲(MNU)诱导的大鼠原位膀胱癌模型证实二甲双胍能够显著膀胱癌前病变向侵袭性膀胱癌的发展进程,而体外实验表明,二甲双胍20 mmol/L能明显抑制信号转导与转录激活因子3(transcription 3, STAT3)信号通路的激活,进而引起膀胱癌细胞周期停滞,细胞增殖、迁移和侵袭减少等。Zhang等^[16]研究表明二甲双胍5 mmol/L能通过抑制细胞周期蛋白D1的表达,使膀胱癌5637和T24细胞的细胞周期停滞在G₀/G₁期,使膀胱癌细胞增殖显著减少。

细胞凋亡是机体为了维持内环境的稳定,由基因调控的细胞自主、有序死亡。正常人体组织的细胞凋亡有利于机体组织的更新换代,而能否通过诱导肿瘤细胞凋亡治疗癌症疾病以及其具体分子机制越来越受到研究者的重视。Zhang等^[17]研究揭示二甲双胍能够通过抑制mTOR/S6K1信号通路,进而下调细胞型Fas相关死亡区域蛋白样白介素-1 β -转换酶抑制蛋白[fas-associated death domain (FADD)-like interleukin-1 β -converting enzyme (FLICE) inhibitory protein, c-FLIP]的表达,引起膀胱癌细胞对TRAIL的敏感性显著增强,从而导致膀胱癌细胞凋亡显著增加。

3 抑制血管生成

血管生成是人体在已有血管基础上通过血管内皮细胞增殖、迁移和分化以出芽的方式萌生的血管分支。血管生成是肿瘤生长的关键步骤之一,在肿瘤的发生、发展中扮演着重要角色,而通过抑制肿瘤血管生成对治疗肿瘤有很大的潜力。早在2001年,Jain等^[18]提出通过服用抗血管生成药物,能使异常的肿瘤血管正常化,进而更有效地运输氧、营养和化疗药品到肿瘤组织,从而提高化疗药物的疗效,间接发挥抗肿瘤的作用。Luo等^[3]研究发现二甲双胍能通过下调人脐静脉内皮细胞(human

umbilical vein endothelial cells, HUVECs)中 miR-21 表达,进而靶向负调控其靶标及下游相关信号通路,最终抑制 HUVECs 的增殖、迁移和小管形成,证实二甲双胍具有抗血管生成作用。该结果提示二甲双胍可能通过抗血管生成进而影响肿瘤细胞的生长。苗帅等^[19]通过在裸鼠右侧腋窝皮下接种膀胱癌 T24 细胞,建立膀胱癌的裸鼠皮下移植瘤模型,实验组 ip 二甲双胍 200 mg/(kg·d),对照组 ip 等量生理盐水,结果显示二甲双胍能抑制膀胱癌移植瘤的质量、体积和成血管作用。

4 作用于膀胱癌干细胞

肿瘤干细胞的无限增殖为肿瘤的生长、复发提供足够的细胞数量支持,而肿瘤干细胞的运动和迁徙能力为肿瘤的转移、侵袭提供必需的前题条件。Liu 等^[20]研究揭示二甲双胍 20 mmol/L 能通过抑制环氧合酶(cyclooxygenase, COX2)信号通路,进而下调前列腺素 E₂(Prostaglandin, PGE₂)的表达以及激活信号转导与转录激活因子(signal transduction and transcription activators, STAT3)轴,发挥抑制膀胱癌干细胞增殖的能力。

5 增强化疗药物的疗效

化疗药物仍是目前临床上用于治疗肿瘤的主要手段之一,但是由于大多数化疗药物不良反应较重,毒性反应较大,带来一定的局限性。Su 等^[21]研究显示二甲双胍 1 mmol/L 能够显著减少 M2 型丙酮酸激酶(pyruvate kinase M2, PKM2)的表达,进一步研究发现,PKM2 的表达下调能激活 AMPK,抑制 STAT3 的表达,进而显著提高吡柔比星对膀胱癌的化疗作用。同样,Peng 等^[13]研究揭示二甲双胍 60 mmol/L 能够增强吉非替尼对膀胱癌细胞中 AMPK 信号通路的激活以及放大吉非替尼对 AKT、ERK 磷酸化的抑制作用,从而显著增强吉非替尼对膀胱癌生长的抑制作用。汪东^[22]等成功构建了 T24 细胞裸鼠膀胱癌移植瘤模型,并采用一定浓度的顺铂(2 mg/kg、4 d)与二甲双胍(250 mg/kg、4 d)联合或单独用药后,观察膀胱癌移植瘤生长变化情况;结果显示,与单独使用顺铂相比,联合使用二甲双胍对膀胱癌移植瘤的体积和重量的增强起到明显的抑制作用,并且能使裸鼠血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的浓度以及肿瘤组织中的微血管密度明显降低。

Nayan 等^[23]利用多变量线性模型分析发现,二甲双胍能显著提高 2 型糖尿病合并膀胱癌患者膀胱切除术后的无复发生存率和膀胱癌特异性生存率。

6 其他机制

炎症是人体对外界损伤因子做出的防御性反应,分为急性炎症和慢性炎症。急性炎症一般持续时间比较短,能帮助人体有效清除进入体内的异常抗原物质;而慢性炎症,尤其是反复发作的慢性炎症却能引起多种疾病,甚至诱导肿瘤的产生。有研究表明,炎症发生时肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF-a)、白介素 6(interleukin 6, IL-6)等炎症因子大量产生,而这些炎症因子被认为是肿瘤发生、发展的关键因子^[24]。同时,体外实验证实二甲双胍能通过抑制 mTOR 信号通路,进而下调 TNF- α 、低氧诱导因子-1 α 和纤溶酶原激活物-1 抗原等的表达,从而抑制肿瘤的炎症反应^[25]。

胰岛素抵抗是肿瘤发生的危险因素之一,而胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)在多数肿瘤细胞中高表达,能促进肿瘤细胞的增殖,抑制其凋亡,在肿瘤的发生、复发、转移中扮演着重要的角色^[26]。这就提示二甲双胍能通过改善胰岛抵抗,调控 IGF 信号通路发挥抗膀胱癌的作用。Guo 等^[27]研究揭示二甲双胍 620 μ g/mL 降低膀胱癌 SW-780 细胞中 TGF-1R 磷酸化,抑制肿瘤细胞的生长。

Li 等^[28]研究证实二甲双胍 20 mmol/L 能通过下调长链非编码 RNA UCA1 的表达,进而抑制膀胱癌 5637 细胞的增殖。

7 结语

二甲双胍作为目前临床上治疗 2 型糖尿病的一线药物之一,具有疗效显著、价格低廉和不良反应小的特点,其主要的不良反应包括腹泻恶心、胃胀等胃肠道反应,最严重的不良反应为乳酸酸中毒。近年来,二甲双胍在抗肿瘤方面的作用越来越受到研究者的关注。

随着二甲双胍抗肿瘤作用分子机制及其信号通路的逐步揭示及研究手段的迅速发展,二甲双胍抗肿瘤的分子调控信号网络逐步趋于完善,越来越多的证据表明二甲双胍能显著抑制诸如卵巢癌^[29]、前列腺癌^[30]、乳腺癌^[31]等多种癌细胞的增殖,甚至杀死癌细胞。虽然众多的实验室研究以及临床大量流行性病学研究、回顾性分析结果都表明二甲双胍具有抗肿瘤的作用,却没有证据明确指出二甲双胍可以用于临床治疗某种癌症,甚至体外实验的二甲双胍浓度远远高于临床治疗浓度。

近年来研究显示二甲双胍能显著提高 2 型糖尿病合并膀胱癌患者的生存率,降低其死亡率。因而

二甲双胍抗膀胱癌的分子机制逐步成为研究热点, 研究者们希望通过对二甲双胍抗膀胱癌的分子机制进行研究, 使临床上应用二甲双胍抗膀胱癌成为可能。与只服用抗膀胱癌化疗药物相比, 联用二甲双胍能显著增加吉非替尼^[32]、顺铂^[33]、吡柔比星^[34]等化疗药物的疗效, 随着二甲双胍治疗膀胱癌的最佳获益人群、最佳剂量的逐步揭示, 将为打破治疗膀胱癌易耐药、易复发等瓶颈做出贡献。

目前, 大多数关于二甲双胍治疗膀胱癌的研究还停留在体外细胞株或者动物实验, 尚需时间更长、样本量更多的临床对照研究、队列研究来加以证明二甲双胍与膀胱癌的关系。相信随着更多人力、财力、物力投入到二甲双胍抗膀胱癌的研究中, 二甲双胍作为治疗膀胱癌的有效手段将逐步用于临床。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 膀胱癌诊疗规范(2018版) [S]. 2018.
- [2] 中国2型糖尿病防治指南(2013年版) [J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(8): 2-42.
- [3] Luo M, Tan X, Mu L, et al. MiRNA-21 mediates the antiangiogenic activity of metformin through targeting PTEN and SMAD7 expression and PI3K/AKT pathway [J]. Sci Rep, 2017, 7: 43427.
- [4] Wang S B, Lei K J, Liu J P, et al. Continuous use of metformin can improve survival in type 2 diabetic patients with ovarian cancer: A retrospective study [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(29): e7605.
- [5] Garrido M P, Vera C, Vega Met al. Metformin prevents nerve growth factor-dependent proliferative and proangiogenic effects in epithelial ovarian cancer cells and endothelial cells [J]. Ther Adv Med Oncol, 2018, 4(10): 1-16.
- [6] 来成军, 曲红华, 郭晓宇, 等. 二甲双胍对肾癌786-O细胞迁移和侵袭的影响 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2014(2): 29-32.
- [7] Ma S, Zheng Y, Xiao Y, et al. Meta-analysis of studies using metformin as a reducer for liver cancer risk in diabetic patients [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(19): e6888.
- [8] Xin W, Fang L, Fang Q, et al. Effects of metformin on survival outcomes of pancreatic cancer patients with diabetes: A meta-analysis [J]. Mol Clin Oncol, 2018, 8(3): 483-488.
- [9] Jin D H, Kim Y, Lee B B, et al. Metformin induces cell cycle arrest at the G1 phase through E2F8 suppression in lung cancer cells [J]. Oncotarget, 2017, 8(60): 101509-101519.
- [10] Rieken M, Xylinas E, Kluth L, et al. Effect of diabetes mellitus and metformin use on oncologic outcomes of patients treated with radical cystectomy for urothelial carcinoma [J]. Urol Oncol, 2014, 32(1): e7-14. Doi: 10.1016/j.urolonc.2013.07.006.
- [11] 丁显飞, 豆萌萌, 周学良, 等. 二甲双胍与2型糖尿病患者膀胱癌发病风险及治疗疗效的Meta分析 [J]. 肿瘤, 2016, 6: 659-667.
- [12] Goossens M E, Buntinx F, Zeegers M P, et al. Influence of metformin intake on the risk of bladder cancer in type 2 diabetes patients [J]. Br J Clin Pharmacol, 2015, 80(6): 1464-1472.
- [13] Peng M, Huang Y, Tao T, et al. Metformin and gefitinib cooperate to inhibit bladder cancer growth via both AMPK and EGFR pathways joining at Akt and Erk [J]. Sci Rep, 2016, 6: 28611.
- [14] Peng M, Su Q, Zeng Q, et al. High efficacy of intravesical treatment of metformin on bladder cancer in preclinical model [J]. Oncotarget, 2016, 7(8): 9102-9117.
- [15] Pan Q, Yang G L, Yang J H, et al. Metformin can block precancerous progression to invasive tumors of bladder through inhibiting STAT3-mediated signaling pathways [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 7(34):77. Doi: 10.1186/s13046-015-0183-0.
- [16] Zhang T, Guo P, Zhang Y, et al. The antidiabetic drug metformin inhibits the proliferation of bladder cancer cells in vitro and *in vivo* [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(12): 24603-24618.
- [17] 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]. Anticancer Drug, 2014, 25(8): 887-897.
- [18] Jain R K. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy [J]. Nat Med, 2001, 7(9): 987-989.
- [19] 苗帅. 二甲双胍对膀胱癌增殖的抑制作用及机制研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2015.
- [20] Liu Q, Tong D, Liu G, et al. Metformin inhibits prostate cancer progression by targeting tumor-associated inflammatory infiltration [J]. Clin Cancer Res, 2018, 10: 5622-5634.
- [21] Su Q, Tao T, Tang L, et al. Down-regulation of PKM2 enhances anticancer efficiency of THP on bladder cancer [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(5): 2774-2790.
- [22] 汪东. 二甲双胍抑制膀胱癌细胞并增强顺铂化疗敏感性及其机制的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2015: 108.
- [23] Nayan M, Bhindi B, Yu J L, et al. The effect of metformin on cancer-specific survival outcomes in

- diabetic patients undergoing radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder [J]. *Urol Oncol*, 2015, 33(9): 386.e7-13. Doi: 10.1016/j.urolonc.2015.05.024.
- [24] 蒋文贤, 陈培富. 慢性炎症与癌症关系研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2019, 40(3): 114-118.
- [25] 丁秋花, 史道华. 二甲双胍抗肿瘤作用的分子机制研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2019(3): 350-354.
- [26] 张小丽, 马玉芳, 肖 骁, 等. 胰岛素抵抗在肝癌作用中的研究进展 [J]. *中外医学研究*, 2019, 17(3): 177-180.
- [27] Guo L S, Li H X, Li C Y, et al. Vitamin D3 enhances antitumor activity of metformin in human bladder carcinoma SW-780 cells [J]. *Pharmazie*, 2015, 70(2): 123-128.
- [28] Li T, Sun X, Jiang X, et al. UCA1 involved in the metformin-regulated bladder cancer cell proliferation and glycolysis [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6): 1-9.
- [29] 郭源源, 王鹏云. 二甲双胍联合紫杉醇对卵巢癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中南药学*, 2018, 16(9): 1237-1240.
- [30] 李东升, 于敬坤, 李立坤, 等. 二甲双胍对体外PC-3人前列腺癌细胞迁移、侵袭能力的影响及机制 [J]. *山东医药*, 2018, 58(45): 32-36.
- [31] 梁君伟, 方志华, 李青山. 二甲双胍联合紫杉醇对人乳腺癌细胞增殖抑制作用及其机制 [J]. *东南大学学报: 医学版*, 2019(1): 93-97.
- [32] 彭 美. 二甲双胍联合吉非替尼抑制膀胱癌的作用及其机理研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2016.
- [33] 汪 东. 二甲双胍抑制膀胱癌BIU87细胞并增强顺铂化疗敏感性及其机制的研究 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(29): 5701.
- [34] 陈 峰, 徐庆康. 二甲双胍提高吡柔比星对膀胱癌杀伤活性的研究 [J]. *浙江实用医学*, 2017, 22(4): 235-237, 249.