

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240738

· 论 著 ·

二甲双胍对胃癌细胞增殖和自噬的影响

王寒, 葛明湃, 崔璐, 徐俊, 印慨*

海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院胃肠外科, 上海 200433

[摘要] **目的** 考察二甲双胍对胃癌细胞增殖和自噬的影响。**方法** 体外实验使用人胃癌细胞 AGS、HGC-27, 采用二甲双胍处理后, 分别用 CCK-8 法、流式细胞术、蛋白质印迹法检测细胞增殖、凋亡及 caspase 3 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3) 等蛋白质表达。体内建立 AGS 细胞裸鼠皮下移植瘤模型, 待肿瘤体积约 100 mm³ 时随机分为对照组、氯喹组、二甲双胍组和二甲双胍与氯喹联合组 ($n=8$), 分别予生理盐水、氯喹 (50 mg/kg)、二甲双胍 (100 mg/kg) 和二甲双胍联合氯喹灌胃, 每日 1 次, 连续 3 周, 其间定期测量并记录肿瘤体积和重量。**结果** 二甲双胍可抑制 AGS、HGC-27 细胞增殖 (IC_{50} 分别为 5.72 和 13.32 mmol/L), 诱导细胞凋亡 (伴 caspase 3 激活) 并激活自噬 (LC3- II 表达水平上升) (均 $P<0.01$); 二甲双胍联合氯喹能进一步降低细胞存活率 ($P<0.01$)。体内实验表明, 二甲双胍组小鼠的肿瘤体积和重量均低于对照组 (均 $P<0.01$), 与氯喹联合后肿瘤体积和重量进一步降低 (均 $P<0.01$)。**结论** 二甲双胍能通过抑制胃癌细胞增殖、诱导凋亡同时激活保护性自噬抑制肿瘤生长, 且与自噬抑制剂氯喹联合使用可在体内外进一步增强其抗癌效果。

[关键词] 二甲双胍; 胃肿瘤; 自噬; 细胞增殖; 细胞凋亡; 肿瘤治疗

[引用本文] 王寒, 葛明湃, 崔璐, 等. 二甲双胍对胃癌细胞增殖和自噬的影响[J]. 海军军医大学学报, 2026, 47(4): 511-517. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240738.

Effect of metformin on gastric cancer cell proliferation and autophagy

WANG Han, GE Mingpai, CUI Lu, XU Jun, YIN Kai*

Department of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of metformin on proliferation and autophagy in gastric cancer cells. **Methods** Human gastric cancer cell lines AGS and HGC-27 were treated with metformin *in vitro*, and the cell proliferation, apoptosis and protein expression of cysteine aspartic acid specific protease 3 (caspase 3) and microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) were detected by cell counting kit 8 assay, flow cytometry and Western blotting, respectively. *In vivo*, a nude mouse model of subcutaneous xenograft tumor was established using AGS cells. When tumor volume reached approximately 100 mm³, mice were randomly assigned to 4 groups ($n=8$): control group, chloroquine group, metformin group, or metformin combined with chloroquine group. Mice were intragastrically administered normal saline, chloroquine (50 mg/kg), metformin (100 mg/kg), and metformin plus chloroquine daily for 3 consecutive weeks, respectively. Tumor volume and weight were measured and recorded regularly during the treatment. **Results** Metformin inhibited the proliferation of AGS and HGC-27 cells with half inhibitory concentrations of 5.72 and 13.32 mmol/L, respectively, induced apoptosis accompanied by caspase 3 activation, and triggered autophagy indicated by elevated LC3- II expression (all $P<0.01$). Combined treatment with metformin and chloroquine further reduced cell viability ($P<0.01$). *In vivo* experiments showed that tumor volume and weight were significantly lower in the metformin group than those in the control group (both $P<0.01$), and further reduction was observed following combined treatment with chloroquine (both $P<0.01$). **Conclusion** Metformin suppresses gastric cancer growth by inhibiting cell proliferation, inducing apoptosis, and activating protective autophagy, and combined treatment with the autophagy inhibitor chloroquine further enhances its antitumor efficacy *in vitro* and *in vivo*.

[Key words] metformin; stomach neoplasms; autophagy; cell proliferation; apoptosis; tumor therapy

[Citation] WANG H, GE M, CUI L, et al. Effect of metformin on gastric cancer cell proliferation and autophagy[J]. Acad J Naval Med Univ, 2026, 47(4): 511-517. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240738.

[收稿日期] 2024-10-30 [接受日期] 2025-08-25

[基金项目] 上海市科学技术委员会医学科技创新研究计划(21Y11913100)。Supported by Medical Science and Technology Innovation Research Program of Shanghai Municipal Science and Technology Commission(21Y11913100)。

[作者简介] 王寒, 硕士生, 住院医师。E-mail: 738634696@qq.com

*通信作者(Corresponding author). E-mail: kyin67@smmu.edu.cn

胃癌是一种具有高发病率和高死亡率的消化系统恶性肿瘤。GLOBOCAN 2022 统计数据显示,胃癌是全球第五大常见癌症(占新发癌症病例数的4.85%),同时也是第五大癌症相关死因(占癌症死亡总人数的6.78%)^[1-2]。目前胃癌治疗以手术治疗、药物治疗和免疫治疗等疗法为主,但往往疗效不佳,且各种化疗药物的不良反应对患者生活质量也会产生不可忽视的影响^[3]。因此,积极采取针对性治疗措施,解决胃癌治疗效果不佳、药物不良反应严重的问题以及提高患者生存率至关重要。

二甲双胍是目前2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者使用最广泛的临床一线口服降糖药物,其作用机制是抑制肝脏糖异生并增加胰腺外周组织对胰岛素的敏感性,从而有效降低机体血糖^[4]。衰老是驱动癌症发生、发展的关键危险因素,有研究表明二甲双胍能够有效延缓衰老进程,因此这一新发现为探索二甲双胍在肿瘤防治中的应用潜力奠定了重要的理论基础^[5-6]。流行病学数据显示,二甲双胍可以降低消化系肿瘤的发病率和死亡率^[7-8]。研究表明,二甲双胍的分子机制是抑制线粒体呼吸链复合体,激活腺苷酸激活蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号通路,从而抑制脂肪合成、提高机体对胰岛素的敏感性^[9]。AMPK激活可以抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路,抑制蛋白质合成、细胞生长和增殖,在肿瘤细胞中mTOR是细胞生长和增殖的中心调节因子,它可以促进蛋白质合成、核糖体生物合成和细胞生长^[10]。mTOR在大多数肿瘤中过度激活,促进肿瘤细胞的无限制增殖。AMPK激活可以诱导自噬,而肿瘤细胞通过这种机制可降解受损的蛋白质或细胞器,以维持细胞的稳态^[11]。

胃癌患者常伴T2DM等代谢性基础疾病。流行病学证据提示,接受二甲双胍治疗的T2DM合并胃癌患者可能预后更佳^[12]。该发现为二甲双胍在肿瘤领域的“药物重定位”(drug repurposing)研究提供了有力依据。现有研究已初步揭示了部分作用机制,但其完整的分子调控网络仍未阐明,尤其在二甲双胍如何直接影响胃癌细胞增殖方面仍缺乏系统的实验数据^[13]。本研究旨在通过体外与体内实验阐明二甲双胍对胃癌细胞增殖的直接调控作用及其分子机制,为其抗癌应用提供理论与实验基础。

1 材料和方法

1.1 试剂 二甲双胍、氯喹(货号C6628,纯度98.5%)、雷帕霉素(货号553210,纯度95%)和z-VAD-fmk(货号V116,纯度98%)均购自美国Sigma-Aldrich公司。所有试剂在体外实验中均用无菌PBS稀释,在体内实验中用无菌生理盐水稀释。

1.2 细胞 人胃癌细胞系AGS购自中国典型培养物保藏中心,人胃癌细胞系HGC-27购自美国ThermoFisher Scientific公司。所有细胞均采用含10% FBS(美国Zeta life公司,货号z7010)和1%青霉素-链霉素(美国Gibco公司,货号10378016)的RPMI 1640培养基(大连美仑生物技术有限公司,货号MA0553)于37.5℃、5% CO₂培养箱中培养。

1.3 细胞毒性和增殖实验 细胞毒性和增殖实验使用CCK-8[比色法,翌圣生物科技(上海)股份有限公司,货号40203ES92]按照说明书进行。设置细胞空白组和培养基空白组。调整HGC-27和AGS细胞悬液密度后,将100 μL细胞悬液接种到96孔板,细胞量为2 000个细胞/孔。96孔板的边缘孔用无菌PBS填充。在5% CO₂、37℃环境中孵育细胞,直到细胞在96孔板孔底形成单层。然后吸弃培养基,加入200 μL含不同浓度(0、5、10、20、40 mmol/L)二甲双胍的培养基,继续孵育72 h后在倒置显微镜下观察。向每个孔中添加20 μL的CCK-8溶液,37℃孵育30 min,使用酶标仪测量450 nm波长处光密度值(D值)。

1.4 凋亡抑制剂干预实验 设置对照组(PBS)、二甲双胍组(0.4 mmol/L)、z-VAD-fmk组(20 mmol/L)和二甲双胍(0.4 mmol/L)+z-VAD-fmk(20 mmol/L)联用组,各组分别在处理AGS细胞72 h后通过CCK-8法测定细胞存活率。

1.5 自噬调节剂联合处理实验 将自噬抑制剂氯喹和自噬促进剂雷帕霉素分别按10 μmol/L和0.5 μmol/L的浓度单独或与二甲双胍联用处理AGS、HGC-27细胞。通过蛋白质印迹法检测微管相关蛋白1轻链3(microtubule associated protein 1 light chain 3, LC3)表达变化。

1.6 流式细胞术分析 用5 mmol/L二甲双胍处理AGS细胞后,使用膜联蛋白V-FITC/PI凋亡测定试剂盒(大连美仑生物技术有限公司,货号MA0220),通过Cyto FLEX流式细胞仪(美国

Beckman Coulter Life Science 公司)检测 AGS 细胞的凋亡水平。

1.7 蛋白质印迹法分析 从经二甲双胍处理的 AGS 细胞中提取总蛋白质,使用 BCA 法精确定量后,通过 SDS-PAGE 分离蛋白质,然后用湿法转膜至 NC 膜上,再用 3% 牛血清白蛋白溶液封闭。依次孵育一抗 [LC3 抗体,货号 2775,美国 Cell Signaling Technology 公司,稀释比例为 1 : 500; 切割活化形式的 caspase 3 (cleaved caspase 3) 抗体,货号 TA7022S,艾比玛特医药科技(上海)有限公司,稀释比例为 1 : 1 000; β 肌动蛋白,货号 P30002S,艾比玛特医药科技(上海)有限公司,稀释比例为 1 : 2 000] 与相应二抗 [山羊抗小鼠 IgG、山羊抗兔 IgG,货号分别为 M211620、M210520,均购自艾比玛特医药科技(上海)有限公司,稀释比例均为 1 : 1 000] 以特异性识别目标蛋白质,最后利用 ECL 法进行显影,并通过 ImageJ 软件对蛋白质条带进行定量分析。

1.8 裸鼠皮下移植瘤模型建立与体内实验 所有动物实验方案均严格遵守海军军医大学转化医学中心实验动物福利与伦理委员会规定,并已获得其审核批准。

选用 6~8 周龄雄性 BALB/c 裸鼠 [上海灵畅生物科技有限公司,货号为 FCB0106; 实验动物生产许可证号为 SCXK (沪) 2023-0003], 在 SPF 级环境中饲养。选取处于对数生长期、状态良好的 AGS 细胞培养至融合度 80%~90% 时,经胰蛋白酶消化后收集并用预冷的无菌 PBS 洗涤 2 次,以彻底去除培养基和血清。随后,将细胞沉淀重悬于 PBS 中,调整细胞悬液密度为 $5 \times 10^7/\text{mL}$ 。每只裸鼠于右后肢皮下注射 1 次 0.1 mL 含 5×10^6 个 AGS 细胞的悬液。此后持续监测肿瘤生长情况,待皮下移植瘤的平均体积约 100 mm^3 时,将所有荷瘤小鼠随机分组并开始执行相应的给药方案 ($n=8$)。

(1) 二甲双胍单药疗效评估: 将荷瘤小鼠随机分为对照组 (每日灌胃等体积生理盐水) 和二甲双胍组 (每日灌胃给予二甲双胍溶液)。二甲双胍配制为 100 mg/mL 的储备溶液,按 100 mg/(kg · d) 剂量给药,实验中每次给药前称重并计算每只小鼠的给药体积以保证剂量准确。

(2) 联合用药协同效应评估: 将荷瘤小鼠随机分为对照组 (每日灌胃等体积生理盐水)、氯喹组 (每日以 50 mg/kg 的剂量灌胃氯喹)、二甲双

胍组 (每日以 100 mg/kg 的剂量灌胃二甲双胍,配制成 100 mg/mL 的溶液) 和二甲双胍与氯喹联用组 (每日同时以 100 mg/kg 的剂量灌胃二甲双胍和以 50 mg/kg 的剂量灌胃氯喹)。连续给药 3 周,在每个给药日对小鼠进行称重并计算灌胃体积。

在整个治疗周期内,定期检测并记录小鼠体重和肿瘤最长径 (L) 与最短径 (W), 计算肿瘤体积 (V): $V = (L \times W^2) / 2$ 。实验结束后采用 CO_2 窒息法处死小鼠,解剖取出各组肿瘤并称重。

1.9 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著性差异法; 肿瘤生长曲线分析采用重复测量方差分析。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 二甲双胍可抑制人胃癌细胞 AGS、HGC-27 的增殖 不同浓度二甲双胍作用 72 h 均对 AGS、HGC-27 细胞的增殖表现出抑制作用 (均 $P < 0.01$), 且随着二甲双胍浓度的升高 AGS 和 HGC-27 细胞存活率均逐步下降 (图 1A)。通过非线性回归分析计算,二甲双胍对 AGS 细胞的 IC_{50} 为 5.72 mmol/L, 对 HGC-27 细胞的 IC_{50} 为 13.32 mmol/L。本研究选取 10 mmol/L 作为后续时间梯度实验的标准化浓度,以考察二甲双胍药效的持续性。将 AGS 和 HGC-27 细胞用 10 mmol/L 二甲双胍分别处理 0、12、24、36、48 h, 2 种细胞的存活率均随二甲双胍作用时间的延长持续降低 (均 $P < 0.01$), 且表现出时间依赖性 (图 1B)。流式细胞术检测结果显示,与对照组相比,二甲双胍处理后存活 AGS 细胞比例减少,而凋亡细胞比例则相应地增多 (图 1C)。这一现象初步提示诱导细胞凋亡可能是二甲双胍发挥其抗肿瘤作用的关键途径之一。

2.2 二甲双胍诱导胃癌细胞发生 caspase 依赖性凋亡 蛋白质印迹法检测结果显示,二甲双胍处理后 AGS 细胞中的 cleaved caspase 3 蛋白表达增加 (图 2A)。z-VAD-fmk 组与对照组 AGS 细胞存活率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明凋亡抑制剂 z-VAD-fmk 对 AGS 细胞无保护或杀伤作用; 而 z-VAD-fmk 与二甲双胍联用后,细胞存活率较二甲双胍组提升 ($P < 0.01$), 说明抑制凋亡可有效削弱二甲双胍对胃癌细胞的毒性作用 (图 2B)。

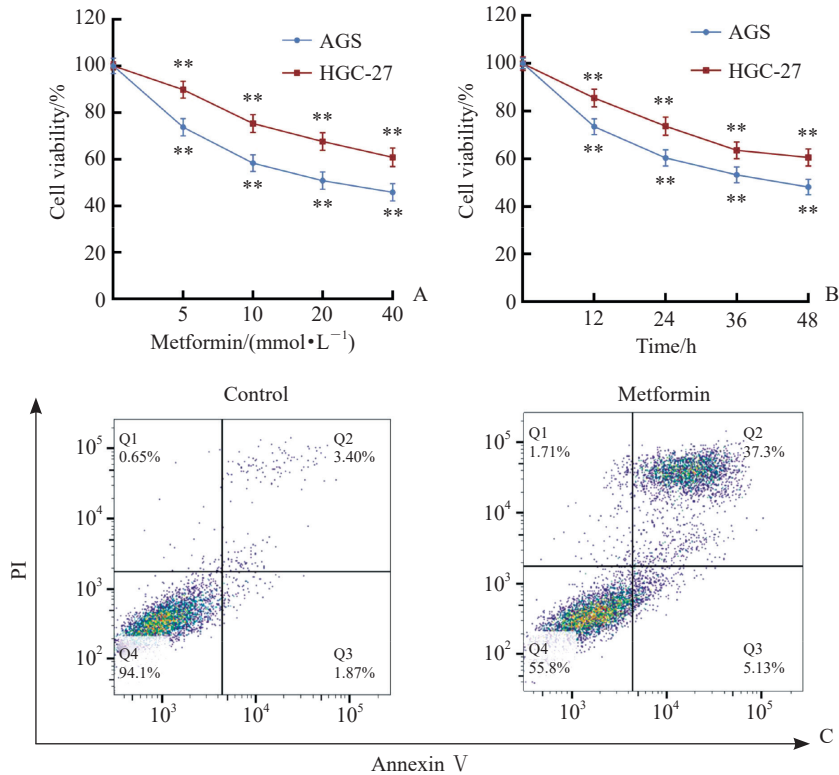


图1 二甲双胍对人胃癌细胞增殖和凋亡的影响

Fig 1 Effects of metformin on proliferation and apoptosis of human gastric cancer cells

A: Changes in cell viability of human gastric cancer cell lines AGS and HGC-27 after 72 h treatment with different concentrations of metformin (***P*<0.01 vs 0 mmol/L in the same cell line. *n*=6, $\bar{x}\pm s$); B: Time-course changes in cell viability of AGS and HGC-27 cells exposed to metformin at 10 mmol/L for 0-48 h (***P*<0.01 vs 0 h in the same cell line. *n*=6, $\bar{x}\pm s$); C: Apoptosis changes of AGS cells detected by flow cytometry after treatment with metformin at 5 mmol/L. PI: Propidium iodide.

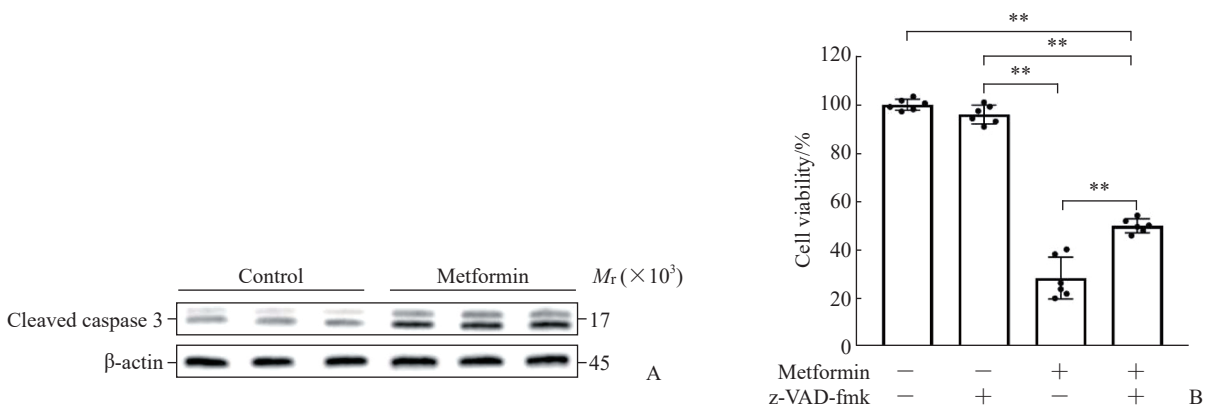


图2 二甲双胍对胃癌细胞 AGS 中凋亡相关蛋白表达的影响 (A) 及其受 z-VAD-fmk 干扰的分析 (B)

Fig 2 Effects of metformin on expression of apoptosis-related proteins (A) and interference by z-VAD-fmk (B) in gastric cancer cell AGS

z-VAD-fmk is an apoptosis inhibitor. ***P*<0.01. *n*=6, $\bar{x}\pm s$. caspase 3: Cysteine aspartic acid specific protease 3.

2.3 二甲双胍诱导胃癌细胞凋亡的同时激活保护性自噬 蛋白质印迹法检测结果显示,二甲双胍处理提升了 AGS 细胞中自噬标志蛋白 LC3- II 的表达水平,与氯喹联用则导致 LC3- II 进一步累积,这说明二甲双胍确实增强了自噬流(图 3A、3B)。与

单用二甲双胍相比,二甲双胍与氯喹联用对 AGS、HGC-27 细胞的毒性增强,导致 2 种细胞的存活率均进一步下降(均 *P*<0.01,图 3C、3D),而二甲双胍与雷帕霉素联用则未对 2 种细胞的存活率产生明显影响(均 *P*>0.05,图 3E、3F)。

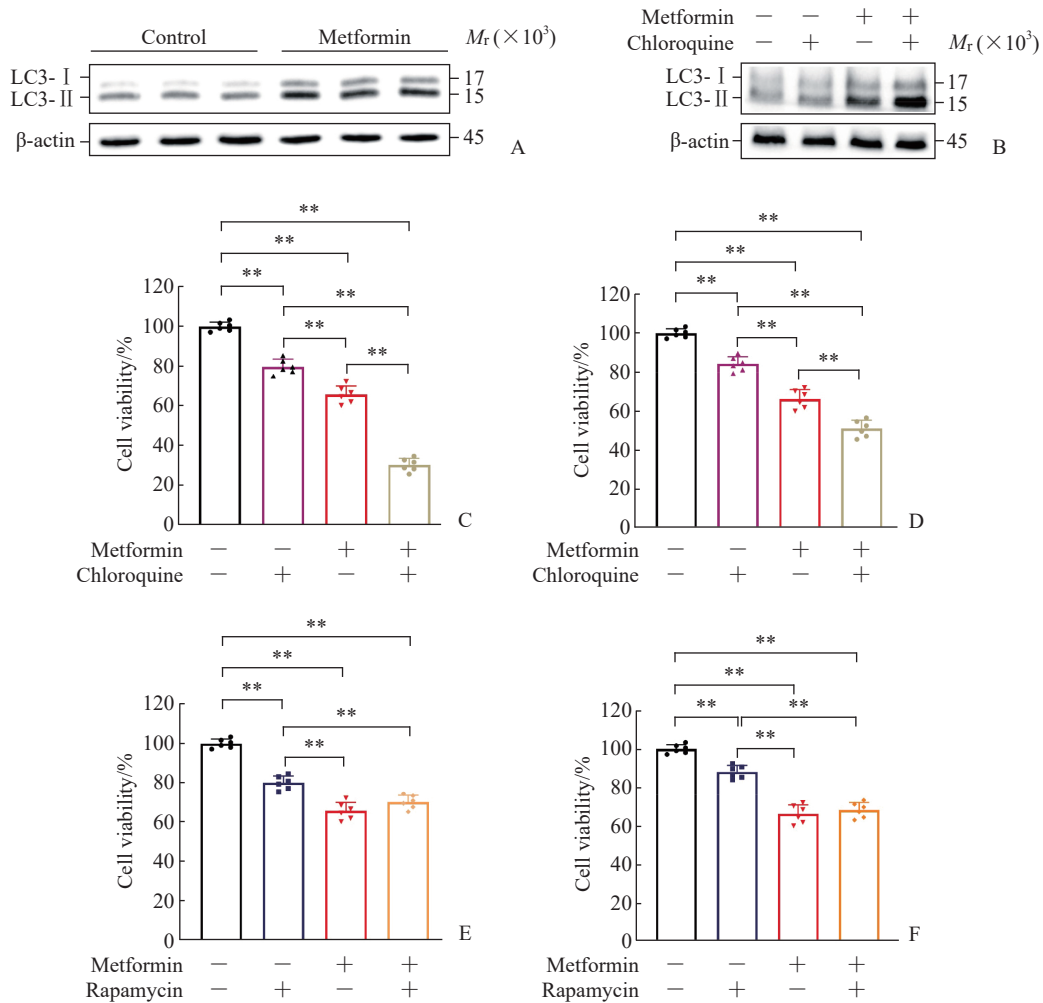


图3 二甲双胍通过调控自噬影响胃癌细胞的存活

Fig 3 Metformin affects survival of gastric cancer cells by regulating autophagy

A: Expression of autophagy-related protein LC3 in human gastric cancer cell AGS following treatment with metformin detected by Western blotting; B: Expression of LC3 in AGS cells following treatment with metformin, chloroquine (an autophagy inhibitor), or their combination detected by Western blotting; C, D: Cell viability of AGS cells (C) and HGC-27 cells (D) determined by CCK-8 assay after treatment with metformin and chloroquine alone or in combination; E, F: Cell viability of AGS cells (E) and HGC-27 cells (F) determined by CCK-8 assay after treatment with metformin and rapamycin (an autophagy inducer) alone or in combination. $**P < 0.01$. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. LC3: Microtubule associated protein 1 light chain 3; CCK-8: Cell counting kit 8.

2.4 抑制保护性自噬可协同增强二甲双胍的凋亡诱导效应

2.4.1 二甲双胍在体内有效抑制胃癌异种移植瘤的生长 在给药后 21 d 内, 对照组肿瘤体积持续快速增长, 而二甲双胍组的肿瘤生长受到抑制 ($P < 0.01$, 图 4); 第 21 天时, 对照组平均肿瘤体积大于二甲双胍组 [$(808.45 \pm 148.80) \text{ mm}^3$ vs $(287.76 \pm 60.32) \text{ mm}^3$, $P < 0.01$], 平均肿瘤重量高于二甲双胍组 [$(0.84 \pm 0.06) \text{ g}$ vs $(0.34 \pm 0.08) \text{ g}$, $P < 0.01$].

2.4.2 联合自噬抑制剂可协同增强二甲双胍的体内抗肿瘤功效 与对照组相比, 氯喹组的肿瘤生长速

度无显著变化, 给药第 20 天末平均肿瘤体积与对照组相比差异无统计学意义 [$(1414.85 \pm 145.17) \text{ mm}^3$ vs $(1522.13 \pm 152.75) \text{ mm}^3$, $P > 0.05$], 表明在此模型中氯喹本身不具备独立的抗肿瘤活性; 二甲双胍有效抑制了肿瘤生长, 第 20 天末平均肿瘤体积小于对照组 [$(1001.71 \pm 103.27) \text{ mm}^3$ vs $(1522.13 \pm 152.75) \text{ mm}^3$, $P < 0.01$]; 而二甲双胍与氯喹联合组表现出更优的抗肿瘤效果, 其肿瘤生长速度最为缓慢, 在第 20 天末平均肿瘤体积为 $(599.99 \pm 109.62) \text{ mm}^3$, 优于二甲双胍组 ($P < 0.01$), 这一结果证明在体内抑制自噬能够增强二甲双胍的抗肿瘤功效 (图 5)。给药第 20 天末时,

对照组平均肿瘤重量为 (1.93±0.17) g, 氯喹组为 (1.88±0.10) g, 两组间差异无统计学意义 ($P>0.05$); 二甲双胍组平均肿瘤重量为 (0.84±0.06) g, 低于对照组 ($P<0.01$); 而二甲双胍与氯喹联合组平均肿瘤重量为 (0.34±0.08) g, 与对照组和二甲双胍组相比均降低 (均 $P<0.01$), 进一步说明二甲双胍在体内可产生对胃癌细胞的杀伤作用, 且联用自噬抑制剂效果更强。

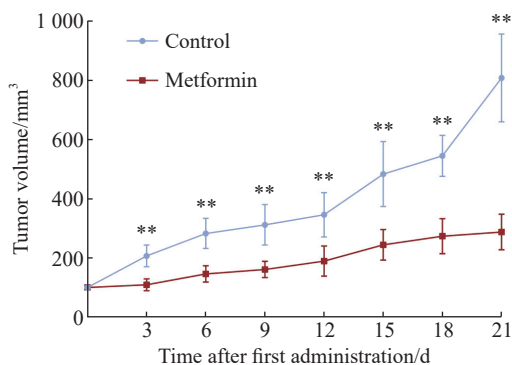


图4 二甲双胍对裸鼠胃癌皮下移植瘤模型肿瘤生长的影响

Fig 4 Effect of metformin on tumor growth in a gastric cancer subcutaneous xenograft nude mouse model

** $P<0.01$ vs metformin group at the same time point. $n=8, \bar{x}\pm s$.

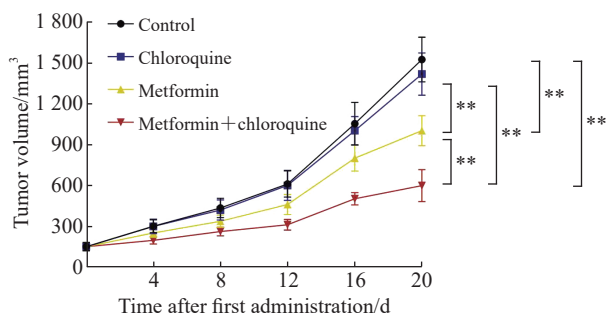


图5 二甲双胍在体内对荷瘤小鼠胃癌体积的影响

Fig 5 Effect of metformin on tumor volume of gastric cancer in tumor-bearing mice *in vivo*

** $P<0.01$ on day 20. $n=8, \bar{x}\pm s$.

3 讨论

胃癌是全球范围内高致死率的恶性肿瘤之一^[1]。大部分患者发现胃癌时常合并其他基础疾病, 而基础疾病、基础疾病用药与肿瘤发生和发展以及治疗之间的相互作用尚未得到充分的研究。目前二甲双胍对于抗衰老、治疗认知障碍和癌症等多种疾病的影响是研究热点^[5]。有研究表明二甲双胍通过影响脂肪酸合成抑制膀胱癌细胞增殖^[14],

还通过干扰肿瘤细胞的糖酵解作用抑制肿瘤细胞增殖^[15]。本研究的核心发现是, 二甲双胍在诱导胃癌细胞凋亡的同时激活了一种拮抗其疗效的保护性自噬。首先通过体外实验证实, 二甲双胍能以浓度和时间依赖的方式抑制人胃癌 AGS 和 HGC-27 细胞的增殖。细胞凋亡是多细胞生物体的一种程序性细胞死亡过程, 也是抗肿瘤药物发挥疗效的核心机制之一。基于流式细胞术观察到的凋亡现象以及既有文献报道, 二甲双胍的抗肿瘤效应通常与经典的细胞信号通路调控相关。本研究推测, 二甲双胍主要通过激活 caspase 蛋白酶级联反应, 即典型的 caspase 依赖性凋亡途径, 促进 caspase 3 激活, 最终导致胃癌细胞凋亡。细胞在面临药物、缺氧或营养匮乏等应激条件时, 除了启动凋亡等死亡程序外, 还可能激活其他细胞生物学过程以试图适应和生存^[16]。

自噬作为一种重要的细胞内循环降解机制, 在维持细胞稳态和应对外界压力中扮演着关键角色。本研究发现, AGS 细胞经不同浓度的二甲双胍处理后其自噬相关蛋白 LC3 的表达呈现出典型的自噬激活模式。LC3 由胞质可溶形式 (LC3-I) 转变为与自噬体膜结合的脂化形式 (LC3-II) 是自噬激活的核心标志。自噬在肿瘤治疗中扮演着复杂的双重角色, 既可作为一种促死亡机制, 也可作为一种促生存 (保护性) 机制^[14]。氯喹通过抑制自噬体与溶酶体的融合来阻断自噬流的末端降解环节^[17]。本实验结果有力地证明, 二甲双胍在胃癌细胞中诱导的自噬是一种保护性自噬, 它并非协同药物杀伤肿瘤, 而是通过拮抗药物自身的抗肿瘤效应, 作为一种细胞的适应性抵抗机制而存在^[18]。本实验还发现, 二甲双胍处理也上调了自噬标志蛋白 LC3-II 的水平, 该结果揭示了这种自噬的“双刃剑”属性: 抑制自噬 (联用氯喹) 能够增强二甲双胍的细胞毒性, 而促进自噬则无此效果^[19]。这有力地证明二甲双胍诱导的自噬并非细胞死亡的执行者, 而是一种细胞为应对药物压力而启动的促生存防御机制^[20]。在多种化疗和靶向治疗中, 保护性自噬均被证实是导致药物疗效受限和肿瘤复发的重要原因^[14,21]。本实验结果表明, 二甲双胍在胃癌治疗中也面临同样的挑战。这一细胞内部凋亡与自噬的“博弈”可能源于上游关键能量感受器 AMPK 的激活, 该通路既能通过抑制 mTOR 促进凋亡, 又能

直接启动自噬程序^[22],二甲双胍的最终疗效取决于这2种下游效应的平衡结果。本研究提出了一个合理的联合治疗策略,并在裸鼠皮下移植瘤模型中验证了其有效性:与二甲双胍单药相比,二甲双胍与氯喹联合应用增强了体内抗肿瘤效果。这一结果提示通过抑制保护性自噬可“解除”癌细胞的防御,有望成为提高二甲双胍在胃癌患者中疗效的关键^[23]。

本研究也存在一些局限性。首先,体外实验所用的二甲双胍浓度远高于临床生理浓度,其结果直接转化需谨慎。其次,本研究未直接检测AMPK/mTOR等上游信号分子的磷酸化状态,对核心机制的阐释仍有待深化。未来的研究应致力于在体内模型中验证联合用药对凋亡和自噬的分子调控,并进一步探索可预测二甲双胍敏感性的生物标志物,为实现个体化治疗提供指导。同时,开展针对不同糖尿病状态的胃癌患者使用二甲双胍的预后对比研究将具有重要的临床价值。

[参考文献]

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263. DOI: 10.3322/caac.21834.
- [2] 胡泽瑞,朱小琼,葛王舒琦,等. 2022年全球及中国胃癌发病率和死亡率分析[J]. *海军军医大学学报*, 2025, 46(6): 767-774. DOI: 10.16781/j.cn31-2187/R.20240736.
- [3] PATEL T H, CECCHINI M. Targeted therapies in advanced gastric cancer[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2020, 21(9): 70. DOI: 10.1007/s11864-020-00774-4.
- [4] SANCHEZ-RANGEL E, INZUCCHI S E. Metformin: clinical use in type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1586-1593. DOI: 10.1007/s00125-017-4336-x.
- [5] SUNJAYA A P, SUNJAYA A F. Targeting ageing and preventing organ degeneration with metformin[J]. *Diabetes Metab*, 2021, 47(1): 101203. DOI: 10.1016/j.diabet.2020.09.009.
- [6] YANG Y, LU X, LIU N, et al. Metformin decelerates aging clock in male monkeys[J]. *Cell*, 2024, 187(22): 6358-6378.e29. DOI: 10.1016/j.cell.2024.08.021.
- [7] COYLE C, CAFFERTY F H, VALE C, et al. Metformin as an adjuvant treatment for cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(12): 2184-2195. DOI: 10.1093/annonc/mdw410.
- [8] EVANS J M, DONNELLY L A, EMSLIE-SMITH A M, et al. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients[J]. *BMJ*, 2005, 330(7503): 1304-1305. DOI: 10.1136/bmj.38415.708634.F7.
- [9] MA T, TIAN X, ZHANG B, et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2[J]. *Nature*, 2022, 603(7899): 159-165. DOI: 10.1038/s41586-022-04431-8.
- [10] HUANG S. mTOR signaling in metabolism and cancer[J]. *Cells*, 2020, 9(10): 2278. DOI: 10.3390/cells9102278.
- [11] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(8): 560-575. DOI: 10.1038/s41580-023-00585-z.
- [12] LI L, HUANG J, HUANG T, et al. Effect of metformin on the prognosis of gastric cancer patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis based on retrospective cohort studies[J]. *Int J Endocrinol*, 2023, 2023: 5892731. DOI: 10.1155/2023/5892731.
- [13] MILLER D R, THORBURN A. Autophagy and organelle homeostasis in cancer[J]. *Dev Cell*, 2021, 56(7): 906-918. DOI: 10.1016/j.devcel.2021.02.010.
- [14] WHITE E, DIPOLA R S. The double-edged sword of autophagy modulation in cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(17): 5308-5316. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5023.
- [15] SALANI B, DEL RIO A, MARINI C, et al. Metformin, cancer and glucose metabolism[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(6): R461-R471. DOI: 10.1530/ERC-14-0284.
- [16] SONG J, GUO X, XIE X, et al. Autophagy in hypoxia protects cancer cells against apoptosis induced by nutrient deprivation through a Beclin1-dependent way in hepatocellular carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(11): 3406-3420. DOI: 10.1002/jcb.23274.
- [17] MAUTHE M, ORHON I, ROCCHI C, et al. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion[J]. *Autophagy*, 2018, 14(8): 1435-1455. DOI: 10.1080/15548627.2018.1474314.
- [18] FANG C W, YANG J S, CHIANG J H, et al. Metformin induces autophagy of cisplatin-resistant human gastric cancer cells in addition to apoptosis[J]. *Biomedicine*, 2023, 13(2): 14-23. DOI: 10.37796/2211-8039.1408.
- [19] ZHAO W, CHEN C, ZHOU J, et al. Inhibition of autophagy promotes the anti-tumor effect of metformin in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancers*, 2022, 14(17): 4185. DOI: 10.3390/cancers14174185.
- [20] HUA Y, ZHENG Y, YAO Y, et al. Metformin and cancer hallmarks: shedding new lights on therapeutic repurposing[J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 403. DOI: 10.1186/s12967-023-04263-8.
- [21] JAIN V, SINGH M P, AMARAVADI R K. Recent advances in targeting autophagy in cancer[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44(5): 290-302. DOI: 10.1016/j.tips.2023.02.003.
- [22] CHOMANICOVA N, GAZOVA A, ADAMICKOVA A, et al. The role of AMPK/mTOR signaling pathway in anticancer activity of metformin[J]. *Physiol Res*, 2021, 70(4): 501-508. DOI: 10.33549/physiolres.934618.
- [23] XIAO Y Y, XIAO J X, WANG X Y, et al. Metformin-induced AMPK activation promotes cisplatin resistance through PINK1/Parkin dependent mitophagy in gastric cancer[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 956190. DOI: 10.3389/fonc.2022.956190.