



## 苯乙双胍联合己糖激酶抑制剂诱导三阴性乳腺癌细胞凋亡

叶琳岚, 贺春晖, 朱旭婷, 李霞

### Hexokinase inhibitor 2-deoxyglucose combined with phenformin induces cell apoptosis of triple-negative breast cancer

YE Linlan, HE Chunhui, ZHU Xuting, LI Xia

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.1006-0111.202103045>

#### 您可能感兴趣的其他文章

##### Articles you may be interested in

##### 泽漆抑制三阴乳腺癌MDA-MB-231细胞及其凋亡机制研究

Inhibitory effect of *Euphorbia helioscopia* on human triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells and its possible mechanism of apoptosis

药学实践杂志. 2017, 35(4): 337-340,358 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.012

##### 海绵来源的smenospongine诱导乳腺癌MCF7细胞凋亡机制研究

Effect of marine sponge-derived smenospongine on apoptosis in breast cancer MCF7 cells

药学实践杂志. 2018, 36(5): 399-402,421 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.004

##### 五味子乙素通过ROS介导内质网应激诱导人乳腺癌MDA-MB-231细胞凋亡的研究

Schisandrin B induces apoptosis of human breast cancer MDA-MB-231 cells through ROS mediated endoplasmic reticulum stress

药学实践杂志. 2021, 39(6): 499-503, 533 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202106123

##### 月腺大戟的化学成分及其乳腺癌细胞毒活性研究

Chemical constituents and cytotoxic activities in breast cancer of *Euphorbia ebracteolata*

药学实践杂志. 2019, 37(4): 309-313,317 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.005

##### 月腺大戟素A通过干扰PKD1介导的MEK/ERK和PI3K/AKT信号通路抑制乳腺癌细胞增殖的研究

Inhibition of ebracteolatin A in the proliferation of breast cancer cells by interfering with PKD1-mediated MEK/ERK and PI3K/AKT signaling pathways

药学实践杂志. 2020, 38(3): 241-244, 276 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.201912008

##### 药师对1例转移性乳腺癌术后伴癌痛患者的药学监护

Pharmaceutical care for a patient with cancer pain after surgery for metastatic breast cancer

药学实践杂志. 2021, 39(4): 359-361 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202101028



关注微信公众号，获得更多资讯信息

· 论著 ·

## 苯乙双胍联合己糖激酶抑制剂诱导三阴性乳腺癌细胞凋亡

叶琳岚, 贺春晖, 朱旭婷, 李霞 (江南大学附属医院药学部, 江苏 无锡 214122)

**[摘要]** 目的 探讨降糖药物苯乙双胍联合己糖激酶抑制剂 2-脱氧葡萄糖(2-DG)对三阴性乳腺癌细胞 4T1 和 MDA-MB-231 凋亡作用的影响。方法 苯乙双胍单独或联合 2-DG 处理 4T1 与 MDA-MB-231 细胞 48 h, 用 SRB 法检测细胞的增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, 试剂盒检测培养上清液中葡萄糖消耗量和乳酸含量, 多功能化学发光仪检测线粒体呼吸链复合物 I 活性, 海马能量检测仪测定细胞线粒体耗氧量 (OCR)。结果 苯乙双胍组的 4T1 与 MDA-MB-231 细胞上清液己糖激酶表达量(4.6±0.17, 3.73±0.21), 葡萄糖消耗量(356±31, 397±42)μg/10<sup>5</sup> 个细胞, 乳酸浓度(5.59±0.52, 7.83±0.78)μmol/L 均高于空白组的己糖激酶表达量(1±0.15, 1±0.12), 葡萄糖消耗量(289±25, 301±32)μg/10<sup>5</sup> 个细胞, 乳酸浓度(2.37±0.18, 4.01±0.45)μmol/L ( $P < 0.01$ ); 苯乙双胍联合 2-DG 组的细胞存活率(64.63±2.28, 51.97±2.29)%, 即使降低 90% 剂量, 仍高于苯乙双胍组(86.70±1.83, 85.53±1.46)%( $P < 0.001$ ), 两药联用极大地促进了 4T1 与 MDA-MB-231 细胞的凋亡, 此外, 相比于苯乙双胍组(5.59±0.52, 7.83±0.78)μmol/L, 苯乙双胍与 2-DG 联用组(3.46±0.37, 5.18±0.62)μmol/L 细胞的乳酸产量也大大下降( $P < 0.01$ ); 与苯乙双胍或 2-DG 单药组相比, 苯乙双胍联合 2-DG 组可显著抑制荷瘤小鼠体内肿瘤的生长速度( $P < 0.01$ ); 苯乙双胍联合 2-DG 组荷瘤小鼠中位生存时间 72.5 d, 高于苯乙双胍组 57 d、2-DG 组 55.5 d( $P < 0.01$ ), 苯乙双胍联合 2-DG 可以延长荷瘤小鼠生存时间。结论 己糖激酶抑制剂 2-DG 显著增强了苯乙双胍对三阴性乳腺癌细胞的治疗作用。

**[关键词]** 苯乙双胍; 三阴性乳腺癌; 2-脱氧葡萄糖; 氧化磷酸化; 有氧糖酵解

**[中图分类号]** R966

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2022)03-0248-06

**[DOI]** 10.12206/j.issn.1006-0111.202103045

## Hexokinase inhibitor 2-deoxyglucose combined with phenformin induces cell apoptosis of triple-negative breast cancer

YE Linlan, HE Chunhui, ZHU Xuting, LI Xia (Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of phenformin combined with hexokinase inhibitor 2-deoxyglucose (2-DG) on the treatment of triple-negative breast cancer cell lines 4T1 and MDA-MB-231. **Methods** Following treatment with phenformin, 2-DG or phenformin combined with 2-DG on 4T1 and MDA-MB-231 cells for 48 h, the cell proliferation in each group was detected by SRB and the apoptosis of cells was detected by flow cytometry. The concentration of glucose and lactic acid in cell culture supernatant was detected by ELISA. The activity of mitochondrial respiratory chain complex I was detected by FlexStation3 and the mitochondrial oxygen consumption (OCR) was assayed with the Seahorse X Fe Analyzer. **Results** The hexokinase expression (4.6±0.17, 3.73±0.21), glucose consumption (356±31, 397±42) μg/10<sup>5</sup> cells, Lactic acid concentration (5.59±0.52, 7.83±0.78) μmol/L in the supernatant of 4T1 and MDA-MB-231 cells in Phenformin group were higher than that in control group (1±0.15, 1±0.12), (289±25, 301±32) μg/10<sup>5</sup> cells, (2.37±0.18, 4.01±0.45) μmol/L ( $P < 0.01$ ). Even if the dose was reduced by 90%, the cell viability of phenformin combined with 2-DG group (64.63±2.28, 51.97±2.29) % was still higher than that of phenformin group (86.70±1.83, 85.53±1.46) % ( $P < 0.001$ ). The combination of the two drugs significantly promoted the apoptosis of 4T1 and MDA-MB-231. In addition, compared with the phenformin group (5.59±0.52, 7.83±0.78) μmol/L, the phenformin combined with 2-DG group (3.46±0.37, 5.18±0.62) μmol/L cell lactic acid production also greatly reduced ( $P < 0.01$ ). Compared with the phenformin or 2-DG single-drug group, the phenformin combined with 2-DG group can significantly inhibit the growth rate of tumors in tumor-bearing mice ( $P < 0.01$ ). The median survival time of tumor-bearing mice in the phenformin combined with 2-DG group was 72.5 d, which was higher than that in the phenformin group 57 d and 2-DG group 55.5 d ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Hexokinase inhibitor 2-DG significantly enhances the therapeutic effects of phenformin on triple-negative breast cancer cells.

**[Key words]** phenformin; triple-negative breast cancer; 2-deoxyglucose; oxidative phosphorylation; aerobic glycolysis

**[基金项目]** 2020 年度无锡市科技发展资金项目(N20202027)

**[作者简介]** 叶琳岚, 主管药师, 研究方向: 分子药理学, Email: yelinlanHP@126.com, Tel:18112389520

**[通信作者]** 李霞, 副主任药师, 研究方向: 分子药理学, Email: lixia.ahmu.cn@163.com, Tel:(0510)68089711

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)临床特点表现为转移能力强、复发率高和患者预后差,是目前威胁女性健康常见的恶性肿瘤之一<sup>[1-3]</sup>。由于其细胞表面不表达孕酮受体、雌激素受体以及表皮生长因子受体,使得常规靶向疗法对 TNBC 收效甚微,目前临床治疗手段仍以传统的化疗为主。然而 TNBC 除了不表达多种激素受体外,往往也伴随着乳腺癌基因(breast cancer gene, BRCA)等多种基因的突变<sup>[4-6]</sup>,导致其成为一种高度异质性的肿瘤类型,易对化疗药物产生抗性,进一步增加了治疗难度。

代谢旺盛的肿瘤细胞能量供应高度依赖有氧糖酵解产生的 ATP,越来越多的研究表明,线粒体氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)对肿瘤细胞糖类、脂类及蛋白质类三大营养物质的相互转化和氧化还原反应的平衡有着重要的作用<sup>[7-8]</sup>。在多种流行病学、临床和实验室研究中证实,糖代谢抑制剂、线粒体呼吸链阻滞剂等具有显著的抗肿瘤作用<sup>[9]</sup>。因此,在正常细胞可承受范围内,靶向破坏肿瘤细胞的糖代谢以及干扰呼吸链的电子传递,是目前肿瘤治疗的新策略。

二甲双胍以其良好的安全性和耐受性,在糖尿病临床治疗中被广泛应用<sup>[10]</sup>。越来越多的研究表明,以二甲双胍为代表的双胍类药物对多种肿瘤具有抑制作用<sup>[11-12]</sup>。苯乙双胍是比二甲双胍作用强 50 倍的线粒体复合物 I 抑制剂<sup>[13]</sup>。然而,苯乙双胍作为一种抗肿瘤药物却难以获得各国药品管理部门的批准,主要原因是其副作用会产生大量的乳酸,易引起严重的乳酸性酸血症<sup>[14-16]</sup>。因此,联用其他辅助药物以降低苯乙双胍的使用剂量,在可控的不良反内达到有效的抗肿瘤作用,是目前肿瘤临床治疗研究的新策略。

笔者将以肿瘤细胞能量代谢为突破点,研究低剂量的苯乙双胍联合己糖激酶抑制剂 2-DG 对 TNBC 的治疗作用,为将来针对 TNBC 的耐药和复发而进行的临床治疗提供新的策略。

## 1 材料

### 1.1 实验动物及细胞

40 只 SPF 级雌性 6 周龄 BALB/c 小鼠,体重(20±2)g,购自浙江省实验动物中心,许可证号:SCXK(浙)2016-0002。小鼠三阴性乳腺癌细胞系 4T1 和人三阴性乳腺癌细胞系 MBA-MD-231(中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心)。

### 1.2 实验试剂

苯乙双胍(Selleck 公司);2-脱氧葡萄糖(Sigma 公司);RNA 反转录试剂盒(ABI 公司);FITC-annexin V/PI 凋亡染色试剂盒(BD 公司);葡萄糖含量检测试剂盒、乳酸含量(LA)检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);海马细胞线粒体压力检测试剂盒(Agilent 公司)。

## 2 方法

### 2.1 细胞分组及药物处理

分别将  $1 \times 10^5$  个 4T1 或 MDA-MB-231 细胞接种到 6 孔板中,每组设 3 个复孔。实验分为空白对照组、苯乙双胍(100  $\mu\text{mol/L}$ )组、2-DG(2 mmol/L)组和联用组(苯乙双胍:10  $\mu\text{mol/L}$ ;2-DG:200  $\mu\text{mol/L}$ )。作用 48 h 后,用 0.25% 的胰蛋白酶消化细胞,获得单细胞悬液,用于后续的细胞增殖和凋亡检测。

### 2.2 流式细胞仪检测细胞凋亡

药物处理细胞 48 h 后,收集各组细胞悬液,4℃ 500×g 离心 5 min。弃上清液,每管加入 1 ml 冷 PBS 重悬细胞,离心后弃上清液,清洗细胞。加入 100  $\mu\text{l}$  1×偶联缓冲液重悬细胞,然后每管分别加入 2  $\mu\text{l}$  annexin V 和 PI,4℃ 避光孵育 30 min。加入 400  $\mu\text{l}$  PBS 重悬细胞,流式细胞仪检测各组细胞凋亡的情况。

### 2.3 葡萄糖和乳酸浓度的测定

各组细胞处理 48 h 后,收集细胞培养上清液,分别用葡萄糖含量检测试剂盒和乳酸含量检测试剂盒测定葡萄糖和乳酸浓度,同时收集细胞并计数。

### 2.4 线粒体耗氧量(OCR)的测定

用海马细胞线粒体压力检测试剂盒测定 4T1 或 MDA-MB-231 细胞的线粒体 OCR。细胞用药物预处理 24 h,在评估前 8 h,以  $6 \times 10^5$  个细胞/孔的最佳培养密度将细胞转移到 XF 微板上,使细胞贴壁。用调节好 pH 7.4 的培养基对细胞进行清洗,在无 CO<sub>2</sub> 培养箱中平衡 1 h。ABC 孔分别加入寡霉素、线粒体解偶联剂(FCCP)、鱼藤酮和抗霉素 A 后,上机检测。

### 2.5 动物实验的分组及处理

分为空白(PBS)组、苯乙双胍(1 mg/kg)组、2-DG(5 mg/kg)组和联用组(苯乙双胍:0.1 mg/kg;2-DG:0.5 mg/kg),每组 10 只小鼠。 $1 \times 10^5$  个 4T1 细胞原位接种到 BALB/c 小鼠乳腺脂肪垫内,待肿瘤生长至 5 mm×5 mm 左右时,荷瘤小鼠开始给药治疗,并每天测量肿瘤的大小。各给药组小鼠按 50  $\mu\text{l}$  体积瘤内注射给予,对照组给予等体积的 PBS,每

2 d 给药 1 次。连续给药 10 次后,观察荷瘤小鼠的肿瘤大小并记录各组小鼠的死亡时间。

### 3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。实验数据用 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,两组间比较用  $t$  检验,多组的组间比较采用单因素方差分析,动物生存时间比较采用 Kaplan-Meier 法。

## 4 结果

### 4.1 苯乙双胍下调 4T1 或 MDA-MB-231 细胞线粒体 OCR

为检测苯乙双胍对线粒体呼吸的影响,将 100  $\mu\text{mol/L}$  苯乙双胍分别作用于 4T1 和 MDA-MB-231 细胞,24 h 后收获细胞,海马生物能量分析仪检测细胞 OCR 水平。结果表明,苯乙双胍孵育 24 h 后,MDA-MB-231 或 4T1 细胞线粒体 OCR 与空白组相比显著降低(图 1)。

### 4.2 苯乙双胍对 4T1 或 MDA-MB-231 细胞有氧糖酵解的影响

100  $\mu\text{mol/L}$  苯乙双胍处理 4T1 和 MDA-MB-231 细胞 48 h 后,检测细胞上清液中己糖激酶表达

量、葡萄糖以及乳酸浓度。结果显示,4T1 和 MDA-MB-231 细胞上清液中己糖激酶表达量,苯乙双胍给药组 ( $4.6\pm 0.17, 3.73\pm 0.21, n=3$ ) 明显高于空白组 ( $1\pm 0.15, 1\pm 0.12, n=3$ ),组间有显著性差异 ( $P<0.001$ ),表明苯乙双胍可在基因水平显著上调己糖激酶的表达(图 2A);4T1 和 MDA-MB-231 细胞上清中葡萄糖消耗量,苯乙双胍给药组 ( $356\pm 31, 397\pm 42, n=3$ )  $\mu\text{g}/10^5$  个细胞明显高于空白组 ( $289\pm 25, 301\pm 32, n=3$ )  $\mu\text{g}/10^5$  细胞,组间有显著性差异 ( $P<0.05$ ),表明苯乙双胍能促进细胞摄取更多的葡萄糖,致使培养基中葡萄糖含量显著增加(图 2B);4T1 和 MDA-MB-231 细胞上清中乳酸浓度,苯乙双胍给药组 ( $5.59\pm 0.52, 7.83\pm 0.78, n=3$ )  $\mu\text{mol/L}$  明显高于空白组 ( $2.37\pm 0.18, 4.01\pm 0.45, n=3$ )  $\mu\text{mol/L}$ ,组间有显著性差异 ( $P<0.01$ ),表明苯乙双胍能显著促进培养上清液中乳酸的产生(图 2C)。

### 4.3 苯乙双胍联合 2-DG 诱导三阴性乳腺癌细胞凋亡

由于苯乙双胍可上调 4T1 和 MDA-MB-231 细胞的有氧糖酵解,因此当我们联用低剂量的己糖激酶抑制剂 2-DG 时,三阴性乳腺癌细胞会发生什么变化呢?结果显示,与空白组相比,单用苯乙双胍

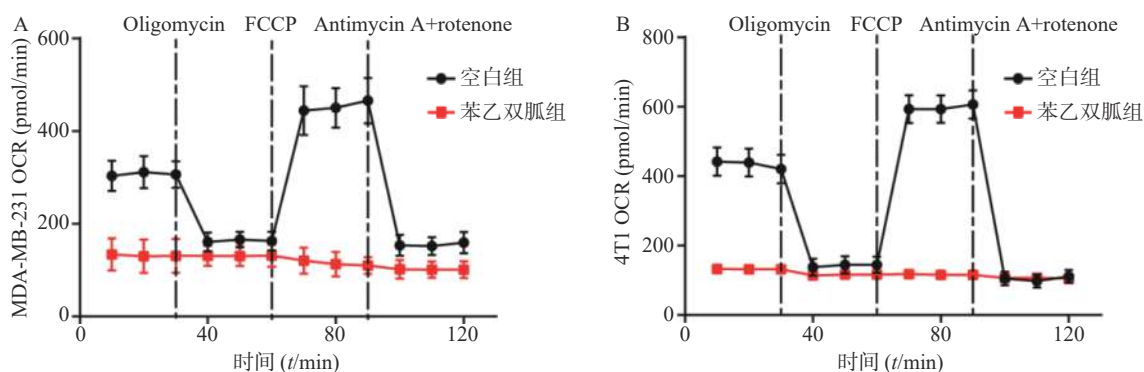


图 1 苯乙双胍对三阴性乳腺癌细胞 OCR 的影响  
注: A.MDA-MB-231 细胞 OCR 水平; B.4T1 细胞 OCR 水平

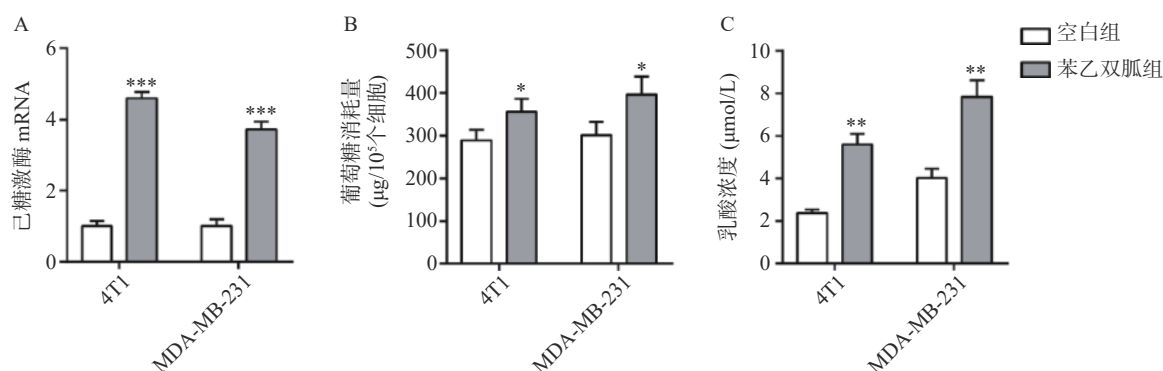


图 2 苯乙双胍对 MDA-MB-231 和 4T1 细胞有氧糖酵解的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

注: A. 己糖激酶 mRNA 表达量; B. 葡萄糖消耗量; C. 乳酸浓度; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , 与空白组比较



或 2-DG 均能显著降低 4T1 与 MDA-MB-231 细胞存活率( $P<0.01$ )(表 1, 图 3); 与苯乙双胍或 2-DG 单药组相比, 苯乙双胍联合 2-DG, 即使降低 90% 剂量, 仍然可以显著降低 4T1 与 MDA-MB-231 细胞的存活率( $P<0.001$ )(表 1, 图 3), 以上结果表明, 苯乙双胍联合 2-DG 能显著促进三阴性乳腺癌细胞的凋亡。与此同时, 检测细胞上清液中的乳酸含

表 1 苯乙双胍联合 2-DG 对三阴性乳腺癌细胞凋亡的影响  
[ $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ , 存活率(%)]

组别	4T1	MDA-MB-231
空白组(PBS)	96.37±2.31	97.63±1.46
苯乙双胍组(100 μmol/L)	86.70±1.83 *	85.53±1.46 **
2-DG(2 mmol/L)	81.27±2.16**	80.67±4.07**
苯乙双胍+2-DG组(苯乙双胍: 10 μmol/L, 2-DG: 200 μmol/L)	64.63±2.28***	51.97±2.29***

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , 与空白组比较

量, 相比苯乙双胍组( $5.59\pm 0.52$ ,  $7.83\pm 0.78$ ,  $n=3$ ) μmol/L, 苯乙双胍与 2-DG 联用组( $3.46\pm 0.37$ ,  $5.18\pm 0.62$ ,  $n=3$ ) μmol/L 细胞的乳酸产量也大幅下降( $P<0.01$ )(图 4)。

#### 4.4 苯乙双胍联合 2-DG 显著抑制 4T1 肿瘤的生长

为了进一步验证苯乙双胍联合 2-DG 在体内抗肿瘤的效果, 我们将 4T1 细胞原位接种到小鼠乳腺脂肪垫中, 并分别给予单药治疗或联合治疗, 观察肿瘤的生长速度以及荷瘤小鼠的生存时间。结果显示, 与苯乙双胍或 2-DG 单药组相比, 苯乙双胍联合 2-DG 组可显著抑制荷瘤小鼠体内肿瘤的生长速度( $P<0.01$ )(图 5A)。此外, 苯乙双胍联合 2-DG 组荷瘤小鼠中位生存时间为 72.5 d, 高于苯乙双胍组(57 d)、2-DG 组(55.5 d)、空白组(50.5 d), 差异有统计学意义( $P<0.01$ )(图 5B), 表明苯乙双胍联合 2-DG 可以延长荷瘤小鼠生存时间。

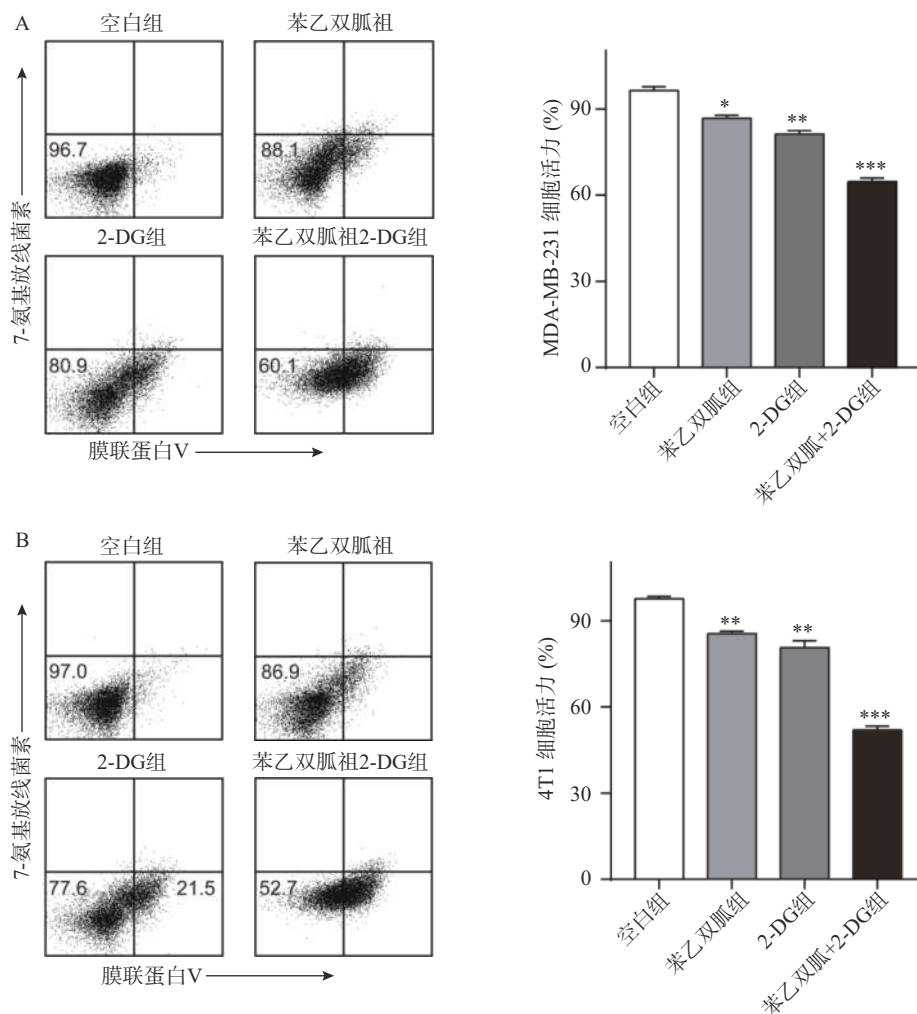


图 3 苯乙双胍联合 2-DG 对三阴性乳腺癌细胞凋亡的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

注: A. 苯乙双胍(100 μmol/L)、2-DG(2 mmol/L)、苯乙双胍(100 ng/ml)联合 2-DG(20 nmol/L)处理 MDA-MB-231, 流式细胞仪检测细胞凋亡情况; B. 苯乙双胍(100 μmol/L)、2-DG(2 mmol/L)、苯乙双胍(100 ng/ml)联合 2-DG(20 nmol/L)处理 4T1, 流式细胞仪检测细胞凋亡情况;

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , 与空白组比较

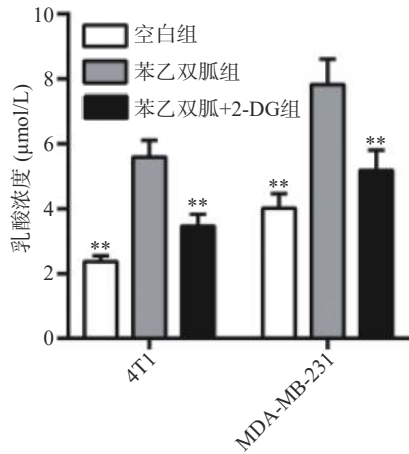


图4 苯乙双胍联合 2-DG 分别对 MDA-MB-231 和 4T1 细胞乳酸产生的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )  
\*\* $P < 0.01$ , 与苯乙双胍组比较

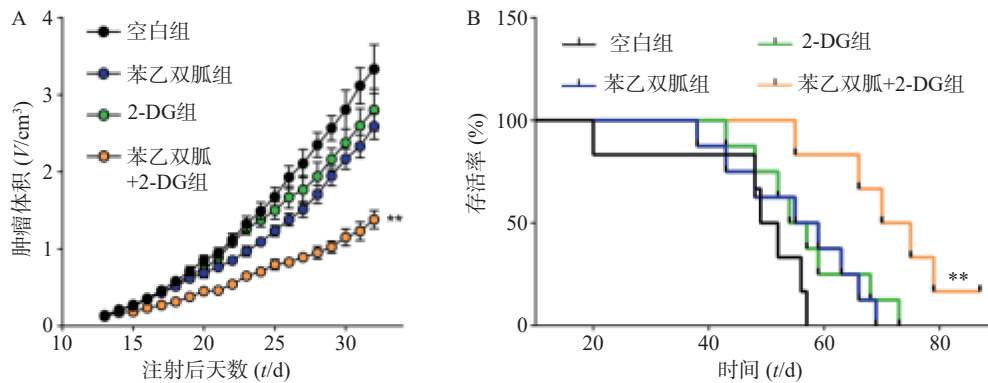


图5 苯乙双胍联合 2-DG 对 4T1 细胞造模小鼠肿瘤体积和生存时间的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

注: A.  $1 \times 10^5$  个 4T1 细胞原位接种到 BALB/c 小鼠乳腺脂肪垫内, 待肿瘤生长至 5 mm×5 mm 左右时, 荷瘤小鼠开始给药治疗, 测量每日肿瘤体积, \*\* $P < 0.01$ , 与苯乙双胍组比较; B. 4T1 细胞造模小鼠给药后的生存时间; \*\* $P < 0.01$ , 与 2-DG 组比较

本研究采用小鼠三阴性乳腺癌细胞系 4T1 和人三阴性乳腺癌细胞系 MBA-MD-231 作为研究对象, 发现苯乙双胍可显著抑制其线粒体氧化磷酸化, 并上调肿瘤细胞的糖酵解。当加入己糖激酶抑制剂 2-DG 时, 糖酵解途径被阻断, 肿瘤细胞被迫使用氧化磷酸化来获取 ATP, 在此情况下, 细胞对苯乙双胍更加敏感。基于该项发现, 采用苯乙双胍联用 2-DG 治疗三阴性乳腺癌细胞。动物体内外结果表明, 苯乙双胍联用 2-DG 可显著增加 4T1 细胞和 MBA-MD-231 细胞的死亡率, 并延长荷瘤小鼠的生存时间。除了对这两种糖代谢方式双重抑制作用外, 联用 2-DG 带来的另一个优势是可大大降低苯乙双胍的使用剂量, 从而减轻苯乙双胍代谢产生的乳酸对机体的不良作用。

综上所述, 通过苯乙双胍联用 2-DG, 可显著增强苯乙双胍对三阴性乳腺癌的凋亡作用, 并降低其使用剂量, 减轻不良反应, 这一发现为三阴性乳腺癌的临床治疗提供新的策略。

## 5 讨论

二甲双胍等双胍类糖尿病治疗药物, 能够通过抑制线粒体复合物 I 来降低细胞内 ATP 水平。线粒体复合物 I 的损伤会降低 NADH 氧化为 NAD<sup>+</sup>, 这是维持 TCA 循环功能的关键反应, 并最终导致抑制氧化磷酸化。前期研究表明, 二甲双胍表现出显著的抗肿瘤作用。苯乙双胍与二甲双胍具有非常相似的代谢特征, 而苯乙双胍的效力更强<sup>[17-18]</sup>。由于乳酸性酸中毒病死率高, 2 型糖尿病临床治疗不再使用苯乙双胍作为一线药物<sup>[19]</sup>。然而作为一种抗癌药物, 因其较低的有效剂量和较短的疗程, 与糖尿病临床治疗大有不同, 苯乙双胍被认为最有望替代二甲双胍的双胍类药物<sup>[20-22]</sup>。

## 【参考文献】

- [1] GARRIDO-CASTRO A C, WINER E P. Predicting breast cancer therapeutic response[J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 535-537.
- [2] KROP I, ISMAILA N, ANDRE F, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society Of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline focused update[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(24): 2838-2847.
- [3] SAVAS P, SALGADO R, DENKERT C, et al. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from TILs to the clinic[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(4): 228-241.
- [4] VAN 'T VEER L J, DAI H Y, VAN DE VIJVER M J, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer[J]. *Nature*, 2002, 415(6871): 530-536.
- [5] BROWN L C, SALGADO R, LUEN S J, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: update for 2020[J]. *Cancer J*, 2021, 27(1): 25-31.
- [6] INCORVAIA L, FANALE D, BONO M, et al. *BRCA1/2* pathogenic variants in triple-negative versus luminal-like breast cancers: genotype-phenotype correlation in a cohort of 531 patients[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2020, 12: 1758835920975326.

- [7] ZACKSENHAUS E, SHRESTHA M, LIU J C, et al. Mitochondrial OXPHOS induced by RB1 deficiency in breast cancer: implications for anabolic metabolism, stemness, and metastasis[J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(11): 768-779.
- [8] LORD S R, CHENG W C, LIU D, et al. Integrated pharmacodynamic analysis identifies two metabolic adaptation pathways to metformin in breast cancer[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(5): 679-688.e4.
- [9] ICARD P, LOI M, WU Z R, et al. Metabolic strategies for inhibiting cancer development[J]. *Adv Nutr*, 2021: nmaa174.
- [10] FLORY J, LIPSKA K. Metformin for type 2 diabetes-reply[J]. *JAMA*, 2019, 322(13): 1313.
- [11] SCHULTEN H J. Pleiotropic effects of metformin on cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): E2850.
- [12] CIOCE M, PULITO C, STRANO S, et al. Metformin: metabolic rewiring faces tumor heterogeneity[J]. *Cells*, 2020, 9(11): E2439.
- [13] DYKENS J A, JAMIESON J, MARROQUIN L, et al. Biguanide-induced mitochondrial dysfunction yields increased lactate production and cytotoxicity of aerobically-poised HepG2 cells and human hepatocytes *in vitro*[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 233(2): 203-210.
- [14] ENIA G, GAROZZO M, ZOCCALI C. Lactic acidosis induced by phenformin is still a public health problem in Italy[J]. *BMJ*, 1997, 315(7120): 1466-1467.
- [15] GARCÍA RUBIÑO M E, CARRILLO E, RUIZ ALCALÁ G, et al. Phenformin as an anticancer agent: challenges and prospects[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): E3316.
- [16] BERNIER G M, MILLER M, SPRINGATE C S. Lactic acidosis and phenformin hydrochloride[J]. *JAMA*, 1963, 184: 43-46.
- [17] KONG H, RECZEK C R, MCELROY G S, et al. Metabolic determinants of cellular fitness dependent on mitochondrial reactive oxygen species[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(45): eabb7272.
- [18] MASOUD R, REYES-CASTELLANOS G, LAC S, et al. Targeting mitochondrial complex I overcomes chemoresistance in high OXPHOS pancreatic cancer[J]. *Cell Rep Med*, 2020, 1(8): 100143.
- [19] OWEN M R, DORAN E, HALESTRAP A P. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex I of the mitochondrial respiratory chain[J]. *Biochem J*, 2000, 348(Pt 3): 607-614.
- [20] FEARNLEY G R, CHAKRABARTI R, EVANS J F. Effect of ethyloestrenol combined with phenformin or with metformin on platelet stickiness and serum-cholesterol in patients with occlusive vascular disease[J]. *Lancet*, 1968, 2(7576): 1004-1007.
- [21] SHACKELFORD D B, ABT E, GERKEN L, et al. LKB<sub>1</sub> inactivation dictates therapeutic response of non-small cell lung cancer to the metabolism drug phenformin[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(2): 143-158.
- [22] DI MAGNO L, MANNI S, DI PASTENA F, et al. Phenformin inhibits hedgehog-dependent tumor growth through a complex I-independent redox/corepressor module[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(6): 1735-1752.
- [收稿日期] 2021-03-19 [修回日期] 2021-07-06  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 207 页)

- [48] CHO Y, LEE S A, CHEW Y L, et al. Multimodal stimulation in a microfluidic device facilitates studies of interneurons in sensory integration in *C. elegans*[J]. *Small*, 2020, 16(10): e1905852.
- [49] HIDI I J, JAHN M, WEBER K, et al. Droplet based microfluidics: spectroscopic characterization of levofloxacin and its SERS detection[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2015, 17(33): 21236-21242.
- [50] WU L, WANG Z Y, ZONG S F, et al. Rapid and reproducible analysis of thiocyanate in real human serum and saliva using a droplet SERS-microfluidic chip[J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 62: 13-18.
- [51] NIE B, MASYUKO R N, BOHN P W. Correlation of surface-enhanced Raman spectroscopy and laser desorption-ionization mass spectrometry acquired from silver nanoparticle substrates[J]. *Analyst*, 2012, 137(6): 1421-1427.
- [52] CYRIAC J, LI G T, COOKS R G. Vibrational spectroscopy and mass spectrometry for characterization of soft landed polyatomic molecules[J]. *Anal Chem*, 2011, 83(13): 5114-5121.
- [53] LUDWIG M, HIMMEL D, HILLEBRECHT H. GIAO versus GIPAW: comparison of methods to calculate <sup>11</sup>B NMR shifts of icosahedral *Closo*-heteroboranes toward boron-rich borides[J]. *J Phys Chem A*, 2020, 124(11): 2173-2185.
- [54] FANG C, XIE Y J, JOHNSTON M R, et al. SERS and NMR studies of typical aggregation-induced emission molecules[J]. *J Phys Chem A*, 2015, 119(29): 8049-8054.
- [55] MUHAMADALI H, SUBAIHI A, MOHAMMADTAHERI M, et al. Rapid, accurate, and comparative differentiation of clinically and industrially relevant microorganisms via multiple vibrational spectroscopic fingerprinting[J]. *Analyst*, 2016, 141(17): 5127-5136.
- [56] XIE Y F, LI P, ZHANG J, et al. Comparative studies by IR, Raman, and surface-enhanced Raman spectroscopy of azodicarbonamide, biurea and semicarbazide hydrochloride[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2013, 114: 80-84.
- [57] SHI Y, CAI M J, ZHOU L L, et al. Measurement of mechanical properties of naked cell membranes using atomic force microscope puncture test[J]. *Talanta*, 2020, 210: 120637.
- [58] BONDŽIĆ A M, LESKOVAC A R, PETROVIĆ S Ž, et al. Conjugates of gold nanoparticles and antitumor gold(III) complexes as a tool for their AFM and SERS detection in biological tissue[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): E6306.
- [收稿日期] 2021-10-26 [修回日期] 2022-02-24  
[本文编辑] 陈盛新