



电子、语音版

·综述·

## 二甲双胍抗胶质瘤作用机制的研究进展

丁文聪<sup>1</sup>, 贺仕清<sup>1</sup>, 廖勇仕<sup>1,2</sup>

1. 南华大学附属南华医院神经外科, 湖南 衡阳 421002

2. 南华大学附属第二医院神经外科, 湖南 衡阳 421000

**摘要:**二甲双胍(MET)是治疗2型糖尿病的一线药物,近年来由于包括胶质母细胞瘤(GBM)在内的高级别胶质瘤的临床有效治疗方案较少,有学者提出MET治疗胶质瘤的可能性,研究表明MET对包含胶质瘤在内的众多实体肿瘤具有抑制作用。为阐明MET抗胶质瘤的确切作用机制,该文对近年来MET抗胶质瘤的相关文献进行综述。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(1): 51-55.]

**关键词:**二甲双胍;胶质瘤;作用机制

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.01.011

### Research advances in the mechanism of metformin against glioma

DING Wen-Cong<sup>1</sup>, HE Shi-Qing<sup>1</sup>, LIAO Yong-Shi<sup>1,2</sup>

1. Department of Neurosurgery, The Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical; School, University of South China, Hengyang, Hunan 421002, China

2. Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital, Hengyang Medical; School, University of South China, Hengyang, Hunan 421000, China

Corresponding author: LIAO Yong-Shi, Email: liaoy66@163.com

**Abstract:** Metformin (MET) is a first-line drug for the treatment of type 2 diabetes. In recent years, due to the lack of effective clinical treatment regimens for high-grade gliomas including glioblastoma (GBM), some scholars have proposed the possibility of MET in the treatment of gliomas, and studies have shown that MET has a considerable inhibitory effect on many solid tumors including gliomas. Therefore, in order to clarify the exact mechanism of MET against glioma, this article reviews the recent articles on the anti-glioma effect of MET.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(1): 51-55.]

**Keywords:** metformin; glioma; mechanism

胶质瘤是来源于中枢神经系统的原发脑肿瘤,约占神经系统肿瘤的30%~40%,占神经系统恶性肿瘤的80%<sup>[1]</sup>。尽管胶质瘤的手术切除、放疗、化疗手段在现代医学中取得长足进步,但患者初诊后中位生存期仍只维持在12~15个月,胶质瘤难以根治性切除以及对放、化疗耐受是其复发及治疗失败的主要原因<sup>[2-3]</sup>。针对276例胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)患者资料的回顾性分

析<sup>[4]</sup>显示,二甲双胍(Metformin, MET)治疗糖尿病合并GBM患者无进展生存期延长;此外,一项包括988例胶质瘤患者的回顾性队列研究<sup>[5]</sup>结果显示,使用MET治疗糖尿病合并胶质瘤患者有提高存活率的趋势。引人注目的是,一项包含有1 093例胶质瘤患者的大宗临床回顾性队列研究<sup>[3]</sup>显示,患有2型糖尿病并接受MET治疗的胶质瘤患者具有更好的预后,且无进展生存率优于罹患胶质

基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(2018JJ2353),湖南省科技厅重点研发项目(2017SK2081)

收稿日期:2021-10-02;修回日期:2021-11-27

作者简介:丁文聪,Email:13676966385@163.com。

通信作者:廖勇仕,Email:liaoy66@163.com。

瘤的患者。因此, MET的抗胶质瘤特性具备一定的研究价值。

增加乳酸分泌、轻度缺氧环境、抑制线粒体内膜复合体 I 活性和激活 AMP 依赖的蛋白激酶(adenosine 5 -monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK) 信号被认为是 MET 抗癌作用的主要机制。通过抑制线粒体呼吸链复合体 I 的功能, 线粒体的 ATP 生成和耗氧量均下降, 细胞转变为依赖糖酵解生成 ATP 获能以及细胞乳酸的代偿性增加, 导致 AMPK 信号的激活, 抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR) 的功能, 随后, 细胞增殖减少、细胞周期停滞、自噬、凋亡和其他形式的细胞死亡开始逐渐体现<sup>[6-7]</sup>。

Labuzek 等<sup>[8]</sup>在内毒素诱导的全身炎症模型上, 观察了 Wistar 大鼠单次和多次口服 MET 后不同脑区、脑脊液和血浆中 MET 浓度的变化, 认为口服 MET 可迅速穿过血脑屏障, 并在中枢神经系统中蓄积, 为患者口服 MET 行抗胶质瘤治疗提供了实验基础。然而体外细胞培养研究经常使用 MET 的剂量在毫摩尔范围内<sup>[9-10]</sup>, 而糖尿病患者大脑中的 MET 剂量测量在微摩尔范围内<sup>[8]</sup>。此外, 有回顾性队列研究发现在正常治疗剂量下, MET 对 GBM 患者的预后没有改善<sup>[11]</sup>。正因如此, 许多 MET 抗胶质瘤的相关研究仅局限在基础实验方面, 真正将 MET 单独应用于临床试验的研究较少。

许多研究人员将目光聚焦到 MET 与其他药物协同抑制胶质瘤细胞的方面上。MET 和替莫唑胺(Temozolomide, TMZ) 的治疗具有协同作用, 一方面可以使 TMZ 耐药型 GBM 细胞重新对 TMZ 敏感, 另一方面可以增强 TMZ 对 GBM 的化疗疗效, 为在胶质瘤的系统治疗中克服 TMZ 耐药开辟了新的途径<sup>[10, 12]</sup>。MET 和双氯芬酸联合用药研究显示联合治疗对胶质瘤细胞有协同抗迁移和抗增殖作用, 为研究 MET 联合双氯芬酸治疗胶质瘤的临床研究提供了先行基础<sup>[9]</sup>。

如前所述, MET 会抑制肿瘤细胞增殖, 降低癌症发展速度, 但导致这种效应的完整作用机制尚不清楚。本文将综述目前研究发现的 MET 抗胶质瘤的作用机制, 以期为胶质瘤的治疗提供新的可行思路。

## 1 MET 作用于线粒体调控氧化应激

MET 抗胶质瘤的作用机制之一是影响 ATP 的产生和调节细胞氧耗。在 Owen 等<sup>[13]</sup>的动物模型实验中证实 MET 的作用靶点可能是线粒体中电子传递链复合体 I (electron transport chain I, ETC I), ETC I 的作用是将电子从还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)基质转移到泛醌。因此, 对 ETC I 的抑制将导致钙离子和线粒体跨膜电位的改变, 导致氧化应激增加, 进而影响细胞的新陈代谢。Ishikawa 等<sup>[14]</sup>的研究表明 ETC I 参与活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生并影响 PI3K/AKT/mTOR 信号

传导, 因此抑制 ETC I 是干扰线粒体代谢和癌症治疗的瓦氏(Warburg)效应策略之一。

MET 可通过抑制 ETC I 的活性, 减少线粒体呼吸, 从而缓解胶质瘤细胞缺氧后表达的放疗耐药性, 提高放疗效率。Gao 等<sup>[15]</sup>对 U87 辐射耐药细胞的相关研究中, 用 MET 作用于 ETC I 对胶质瘤 U87 细胞的增敏作用, 结果显示 MET 抑制了 ETC I, 增加了 ROS 的产生, 并诱导 AMPK 激活以抑制 U87 细胞, 使得抗辐射的 U87 细胞对辐射重新敏感。

此外 Dico 等<sup>[16]</sup>的体外研究证实, 缺氧环境对 TMZ 敏感的 U251 和对 TMZ 耐药的 T98 细胞而言, TMZ+MET 可降低 U251 细胞的存活率, 这种作用与降低缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 活性、释放血管内皮生长因子和活化 AKT 有关, 在 TMZ 耐药的 T98 细胞中, TMZ+MET 仅对 HIF-1 $\alpha$  有类似的作用。随后作者分析了 TMZ 联合 MET 或 BEZ235 (PI3K/mTOR 阻滞剂) 在缺氧条件下的治疗效果, 研究结果表明缺氧条件下 TMZ 和 MET 联合治疗可有效降低胶质瘤细胞的存活率, 提示 MET 通过 PI3K/AKT/mTOR 轴在低氧诱导化疗耐药中起着重要作用。

MET 还可以通过影响超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) 的活性来抑制胶质瘤细胞活性。Xiong 等<sup>[17]</sup>的研究表明, MET 可以降低 GBM 细胞中 SOD 活性的含量, 导致 GBM 细胞有更高的概率暴露在氧自由基下, 提示 MET 对 GBM 的抑制作用可能与氧化应激有关。

据此认为 MET 可能通过参与氧化应激影响胶质瘤细胞的新陈代谢, 并消除胶质瘤细胞的部分耐药性, 进一步增敏化疗疗效, 从而起到抗胶质瘤的效果。

## 2 MET 调控 AMPK 通路发挥抗胶质瘤作用

### 2.1 MET 参与 AMPK 通路调节影响胶质瘤细胞应激及免疫微环境

AMPK 功能异常与肿瘤的发展过程有关, 参与 AMPK 的调节可能是 MET 抗胶质瘤重要的作用机制。Zhang 等<sup>[18]</sup>通过对 GBM 细胞应激机制进行了分析, 他们认为磷脂酰肌醇-3-激酶增强子(PIKE-A) 激活 AKT 的作用, AMPK 参与了该致癌因子磷酸化, 进而通过破坏 CDK4 的功能途径, 间接实现抑制肿瘤发展的作用。Chhipa 等<sup>[19]</sup>在对人类原代 GBM 细胞和异种移植小鼠的研究中表明, 与癌症相关的慢性应激增加了 AMPK 通路的活性。

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs) 对胶质瘤的免疫微环境有重要影响, 通过表达抗炎表型, 从而产生抗肿瘤免疫反应的抑制细胞因子, 促进肿瘤生长和血管生成<sup>[20]</sup>。Wang 等<sup>[21]</sup>也得出了类似的结论, 他们通过抑制血管内皮生长因子的表达强调了该药物的抗血管生成作用。

## 2.2 MET调节AMPK/mTOR轴抗胶质瘤

MET可能通过调节AMPK/mTOR通路来抑制癌细胞的增殖、侵袭和迁移。在胶质瘤发展的过程中,MET通过激活AMPK信号通路,导致乙酰辅酶A羧化酶磷酸化,引起mTOR被阻断,使胶质瘤生长受到抑制<sup>[22]</sup>。Xiong等<sup>[17]</sup>的研究证明MET导致AMPK表达增加和mTOR蛋白表达减少,从而抑制增殖和增加肿瘤细胞凋亡。Liu等<sup>[23]</sup>的研究表明MET的抗癌作用之一是通过改变AMPK激活和mTOR抑制之间的平衡,导致HIF-1 $\alpha$ 的负性调节。此外,Xiong等<sup>[17]</sup>对人脑胶质瘤A172细胞的体外实验研究表明,MET以剂量和时间依赖性增加AMPK/pAMPK/Bax蛋白表达,降低mTOR/Bcl-2蛋白表达,从而抑制A172细胞的增殖和凋亡,降低A172细胞的侵袭和迁移能力。这些都证实了AMPK/mTOR信号通路在MET抗胶质瘤中的作用,提示其具有潜在的应用前景。

体外实验研究中MET抗胶质瘤的每日用量高达2 000 mg,而糖尿病患者如每天的MET服用量达到或超过2 000 mg就可能会产生严重的毒性反应<sup>[24]</sup>,简单地增加MET的用药剂量在临床上不太可能直接用于治疗胶质瘤。目前有6项临床试验涉及单独或联合使用MET治疗成人恶性胶质瘤(NCT02149459、NCT02780024、NCT04691960、NCT03151772、NCT03243851和NCT01430351)。尽管这些临床试验尚处于招募及初步试验阶段,但这有希望成为MET联合用药抗胶质瘤的先行依据。

为减少MET单独用药治疗时的用量,Korsakova等<sup>[25]</sup>在C57BL/6小鼠GL-261移植瘤模型上进行了总体存活和肿瘤体积生长实验,研究了二氯乙酸(Dichloroacetate, DCA)与MET在体内外对GBM细胞的协同杀伤作用。结果提示DCA和MET具有剂量依赖性的协同作用。DCA联合MET能抑制肿瘤生长,提高异种植小鼠的总体存活率。

Lee等<sup>[12]</sup>则设想MET联合TMZ抗胶质瘤的可行性,他们对U87、U251和A172细胞的体内体外实验发现TMZ和MET均以剂量依赖的方式诱导AMPK磷酸化,同时TMZ和大剂量MET(20 mmol/L)联合应用可进一步增加AMPK的磷酸化水平。尽管TMZ对mTOR磷酸化无直接影响,但TMZ和MET联合应用可抑制mTOR磷酸化水平。与单一药物治疗相比,联合治疗对磷酸化AMPK及其下游分子的激活作用更强。

此外Lee等<sup>[12]</sup>还研究了比初始剂量高5倍的MET疗效。虽然存活增益并无统计学意义,但随着剂量的增加,存活率有增加的趋势。因此还需要进一步的研究测试更高剂量的MET是否更能激活AMPK-mTOR信号通路,并提供生存益处。

Valtorta等<sup>[26]</sup>使用了对TMZ敏感的U251及对TMZ耐药的T98G细胞系,正如预期的那样,单独使用TMZ的单

一疗法只对化疗敏感细胞有治疗效果。MET的加入均导致U251和T98G细胞存活率下降,证实了MET联合TMZ能有效增强对胶质瘤细胞的抑制作用。此外,Adeberg等<sup>[27]</sup>则研究了MET联合化疗和放射治疗2种细胞系的影响,他们通过对LN229、LN18细胞进行放射治疗联合MET和TMZ后证实,LN229细胞系中AMPK的表达呈剂量依赖性增加。虽然在LN18细胞系中AMPK水平的变化没有统计学意义,但MET的放射增敏作用在LN18细胞中更为明显,此后2种细胞都显示出AMPK的激活与mTOR抑制,进而对胶质瘤的增殖起到一定的抑制作用。

近期,Porper等<sup>[28]</sup>对于动物脑肿瘤模型的相关实验已经证明放射治疗和生酮饮食(ketogenic diet, KD)之间存在协同作用,且MET的AMPK激活和mTOR抑制具有体外抗癌活性。此后他们对13例接收放射治疗的患者进行了MET联合治疗的单机构I期临床试验,其中MET使用剂量为1次850 mg,每天3次,1天的总用量为2 550 mg,但患者耐受性很差。新诊断和复发疾病的中位无进展生存期分别为10和4个月,这提示MET干预胶质瘤治疗具备可行性。

MET通过AMPK/mTOR信号通路抗胶质瘤的作用提示其在胶质瘤治疗中具有潜在的应用前景。尽管MET单药剂量过高将不可避免地引起毒性反应,但联合用药抗胶质瘤的相关临床研究有希望提供可靠的先行依据。此外,MET联合TMZ的细胞实验也显示了可观的效果。这提示MET可通过调节AMPK/mTOR通路来抑制胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移,并有望通过联合用药减少毒副作用,为胶质瘤的治疗提供新的思路。

## 3 MET参与调控Caspase 3、BAX和BCL-2表达影响胶质瘤细胞凋亡

肿瘤发生机制中细胞凋亡是一个重要研究方向,而细胞凋亡受多种因素调控,其功能紊乱的后果在胶质瘤的发病案例中反复出现。Xiong等<sup>[17]</sup>最近提出的一项研究证实,MET可促使人GBM细胞中Caspase 3活性的增加,诱导细胞凋亡。此外,Zarnescu等<sup>[29]</sup>研究表明,U87细胞系异种移植后的免疫组织化学结果提示存在Caspase 3和Caspase 9活性均增强的阳性细胞。事实是,适当的Caspases活性下降将大量诱导GBM细胞凋亡,但又有助于增强它们生长迁移的能力。然而,要彻底解释这个现象,还需要进一步的鉴别实验研究。另外,Tirapelli等<sup>[30]</sup>通过对30例GBM细胞进行免疫组织化学的结果表明Bcl-2的高表达有助于提高胶质瘤细胞的存活率,而MET处理后的GBM细胞Bcl-2水平下降,提示MET可能通过诱导细胞凋亡的机制起到抗胶质瘤的作用,然而这个思路尚需要对动物模型和癌症患者进行进一步的观察。

以上研究结果提示,MET可能通过调控Caspase 3、Caspase 9、BAX和BCL-2影响胶质瘤细胞凋亡,但也如

Zarnescu 等的研究结果所示,适当的 Caspases 活性下降将大量诱导 GBM 细胞凋亡,但又有助于增强它们生长迁移的能力。因此, MET 通过影响胶质瘤细胞凋亡治疗胶质瘤疾患的相关实验尚需进一步完善。

#### 4 MET 对胶质瘤干细胞的抑制作用

MET 也可对干细胞样胶质瘤细胞起到抑制作用,干细胞样胶质瘤细胞也被称为胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs),具有高度的自我更新能力、迁移能力和对细胞抑制剂的抵抗力,正是由于 GSCs 的存在决定了复发倾向和对治疗具备抵抗力。因此, GSCs 已成为胶质瘤新疗法研究的一个重要方面,已有文献表明, MET 具有选择性杀死癌症干细胞的潜力<sup>[31]</sup>。

Aldea 等<sup>[32]</sup>研究发现 MET 与索拉非尼(RAS/RAF/ MAPK 途径抑制剂, Soraf)联合使用可提高对 GSC 细胞株的治疗效果,可降低 TMZ 耐药的 GSCs 增殖。Leidgens 等<sup>[33]</sup>则使用 MET 和联合用药对 GBM 的 GSCs 细胞予以干预,观察到 MET 治疗可能通过激活 AMPK,抑制 mTOR 与 STAT3 的特异性磷酸化,同时 MET 和他汀类药物在高剂量时也降低了总 STAT3 水平,提示 MET 可能是调控 STAT3 影响 GSCs 进而治疗 GBM 的一种有前途的新策略。

此外,有研究认为 MET 通过影响 AMPK 表达,进而介导 Forkhead Box O3(FOXO3)和 AKT 表达下降,最终通过抑制 GSCs 起到抗胶质瘤细胞的作用<sup>[34]</sup>。Sunayama 等<sup>[35]</sup>的研究证实了这一点,他们观察到 FoxO3a 转录因子的激活可能会影响 GSCs 的分化过程,导致它们分化为非癌细胞。Sato 等<sup>[34]</sup>随后在小鼠模型上进行的研究表明, MET 通过调控 AMPK 表达进而影响 FoxO3a 的激活过程,导致癌症过程中 GSCs 转化方向的改变,这种转变导致负责自我更新的 GSCs 枯竭,从而提高了胶质瘤小鼠的存活率,起到一定的抗胶质瘤效果。

同时, Yu 等<sup>[36]</sup>通过对 U87、C6 细胞系分离出的 GSCs 细胞进行体外研究发现, MET 与 TMZ 具有协同抑制 GSCs 增殖和扩增的作用,与单独使用 TMZ 相比,单独使用 MET 可诱导 GSCs 凋亡,并增强对细胞周期的阻滞作用,他们表示 MET 可能通过下调 PI3K/Akt 通路从而对 GSCs 细胞进行抑制作用。

目前, MET 对 GSCs 抑制作用的文献主要集中在 MET 对 AMPK-mTOR/STAT3、AMPK-FOXO3 及 AMPK-PI3K/AKT 通路方面的研究,他们的研究结果提示 MET 可通过影响 GSCs 的增殖、分化从而抑制胶质瘤细胞的进展,但目前关于 GSCs 的相关研究仅局限于体外细胞实验,尚需进一步完善动物实验验证假说。

综上所述, MET 通过多种途径影响胶质瘤细胞的增殖、迁移及分化。许多研究还证明 MET 可以作为胶质瘤细胞 TMZ 治疗和/或放射治疗的“增敏剂”,抑或是其他药物治疗胶质瘤的联合试剂。尽管得出了许多客观的结

论,但大部分研究仅局限于胶质瘤细胞系实验,这样的模型并不能展示肿瘤细胞在人体发展过程中的全貌,应进一步完善动物实验或对胶质瘤患者的观察。使用这种新的药物可能会是一种新的辅助治疗方案,但要了解 MET 对胶质瘤细胞影响的作用机制,仍需在调节免疫功能、控制自噬以及联合用药等方面进行深入的探究,并探索出 MET 治疗胶质瘤患者的有效方案,延长患者的生存期,增加患者的存活率。总之, MET 为胶质瘤的治疗及临床应用提供新的思路,为治疗及干预胶质瘤疾病的发生发展提供了新的契机。

#### 参 考 文 献

- [1] GOODENBERGER ML, JENKINS RB. Genetics of adult glioma[J]. *Cancer Genet*, 2012, 205(12): 613-621.
- [2] STUPP R, MASON WP, BENT MJVAN DEN, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(10): 987-996.
- [3] SELIGER C, LUBER C, GERKEN M, et al. Use of metformin and survival of patients with high-grade glioma[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(2): 273-280.
- [4] ADEBERG S, BERNHARDT D, HARRABI SBEN, et al. Metformin influences progression in diabetic glioblastoma patients[J]. *Strahlenther Onkol*, 2015, 191(12): 928-935.
- [5] WELCH MR, GROMMES C. Retrospective analysis of the effects of steroid therapy and antidiabetic medication on survival in diabetic glioblastoma patients[J]. *CNS Oncol*, 2013, 2(3): 237-246.
- [6] YOUSEF M, TSIANI E. Metformin in lung cancer: review of *in vitro* and *in vivo* animal studies[J]. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(5): 45.
- [7] FARMER RE, FORD D, FORBES HJ, et al. Metformin and cancer in type 2 diabetes: a systematic review and comprehensive bias evaluation[J]. *Int J Epidemiol*, 2017, 46(2): 728-744.
- [8] ŁABUZEK K, SUCHY D, GABRYEL B, et al. Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide[J]. *Pharmacol Rep*, 2010, 62(5): 956-965.
- [9] GERTHOFER V, KREUTZ M, RENNER K, et al. Combined modulation of tumor metabolism by metformin and diclofenac in glioma[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2586.
- [10] YU ZY, ZHAO G, XIE GF, et al. Metformin and temozolomide act synergistically to inhibit growth of glioma cells and glioma stem cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 32930-32943.
- [11] SELIGER C, GENBRUGGE E, GORLIA T, et al. Use of metformin and outcome of patients with newly diagnosed glioblastoma: pooled analysis[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(3): 803-809.
- [12] LEE JE, LIM JH, HONG YK, et al. High-dose metformin plus temozolomide shows increased anti-tumor effects in glioblastoma *in vitro* and *in vivo* compared with monotherapy[J]. *Cancer Res*

- Treat, 2018, 50(4): 1331-1342.
- [13] OWEN MR, DORAN E, HALESTRAP AP. 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.
- [14] ISHIKAWA K, TAKENAGA K, AKIMOTO M, et al. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis[J]. Science, 2008, 320(5876): 661-664.
- [15] GAO XJ, YANG YQ, WANG J, et al. Inhibition of mitochondria NADH - ubiquinone oxidoreductase (complex I) sensitizes the radioresistant glioma U87MG cells to radiation[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129: 110460.
- [16] DICO ALO, VALTORTA S, OTTOBRINI L, et al. Role of metformin and AKT axis modulation in the reversion of hypoxia induced TMZ-resistance in glioma cells[J]. Front Oncol, 2019, 9: 463.
- [17] XIONG ZS, GONG SF, SI W, et al. Effect of metformin on cell proliferation, apoptosis, migration and invasion in A172 glioma cells and its mechanisms[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 887-894.
- [18] ZHANG S, SHENG H, ZHANG XY, et al. Cellular energy stress induces AMPK-mediated regulation of glioblastoma cell proliferation by PIKE-A phosphorylation[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(3): 222.
- [19] CHHIPA RR, FAN Q, ANDERSON J, et al. AMP kinase promotes glioblastoma bioenergetics and tumour growth[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(7): 823-835.
- [20] DING L, LIANG GK, YAO ZT, et al. Metformin prevents cancer metastasis by inhibiting M2-like polarization of tumor associated macrophages[J]. Oncotarget, 2015, 6(34): 36441-36455.
- [21] WANG JC, SUN X, MA Q, et al. Metformin's antitumour and anti-angiogenic activities are mediated by skewing macrophage polarization[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(8): 3825-3836.
- [22] GWINN DM, SHACKELFORD DB, EGAN DF, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint[J]. Mol Cell, 2008, 30(2): 214-226.
- [23] LIU XN, CHHIPA RR, POOYA S, et al. Discrete mechanisms of mTOR and cell cycle regulation by AMPK agonists independent of AMPK[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(4): E435-E444.
- [24] STUMVOLL M, NURJHAN N, PERRIELLO G, et al. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus [J]. N Engl J Med, 1995, 333(9): 550-554.
- [25] KORSAKOVA L, KRASKO JA, STANKEVICIUS E. Metabolic-targeted combination therapy with dichloroacetate and metformin suppresses glioblastoma cell line growth *in vitro* and *in vivo* [J]. In Vivo, 2021, 35(1): 341-348.
- [26] VALTORTA S, DICO ALO, RACCAGNI I, et al. Metformin and temozolomide, a synergic option to overcome resistance in glioblastoma multiforme models[J]. Oncotarget, 2017, 8(68): 113090-113104.
- [27] ADEBERG S, BERNHARDT D, HARRABI SB, et al. Metformin enhanced *in vitro* radiosensitivity associates with G2/M cell cycle arrest and elevated adenosine-5'-monophosphate-activated protein kinase levels in glioblastoma[J]. Radiol Oncol, 2017, 51(4): 431-437.
- [28] PORPER K, SHPATZ Y, PLOTKIN L, et al. A Phase I clinical trial of dose-escalated metabolic therapy combined with concomitant radiation therapy in high-grade glioma[J]. J Neurooncol, 2021, 153(3): 487-496.
- [29] ZARNESCU O, BREHAR FM, CHIVU M, et al. Immunohistochemical localization of caspase-3, caspase-9 and Bax in U87 glioblastoma xenografts[J]. J Mol Histol, 2008, 39(6): 561-569.
- [30] TIRAPELLI LF, PHNABOLINI, DPDCTIRAPELLI, et al. Caspase-3 and Bcl-2 expression in glioblastoma: an immunohistochemical study[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2010, 68(4): 603-607.
- [31] SONG CW, LEE H, DINGS RPM, et al. Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells[J]. Sci Rep, 2012, 2: 362.
- [32] ALDEA MD, PETRUSHEV B, SORITAU O, et al. Metformin plus sorafenib highly impacts temozolomide resistant glioblastoma stem-like cells[J]. J BUON, 2014, 19(2): 502-511.
- [33] LEIDGENS V, PROSKE J, RAUER L, et al. Stat3 and metformin inhibit brain tumor initiating cells by reducing STAT3-phosphorylation[J]. Oncotarget, 2017, 8(5): 8250-8263.
- [34] SATO A, SUNAYAMA J, OKADA M, et al. Glioma-initiating cell elimination by metformin activation of FOXO3 via AMPK [J]. Stem Cells Transl Med, 2012, 1(11): 811-824.
- [35] SUNAYAMA J, SATO A, MATSUDA KI, et al. FoxO3a functions as a key integrator of cellular signals that control glioblastoma stem-like cell differentiation and tumorigenicity[J]. Stem Cells, 2011, 29(9): 1327-1337.
- [36] YU ZY, ZHAO G, LI PL, et al. Temozolomide in combination with metformin act synergistically to inhibit proliferation and expansion of glioma stem-like cells[J]. Oncol Lett, 2016, 11(4): 2792-2800.

责任编辑:王荣兵