

中图分类号: R965; R979.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)15-0068-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.15.012



二甲双胍增敏吉西他滨对人胰腺癌细胞的抑制作用及其机制*

张晓丹¹, 李光慧¹, 袁媛¹, 王利苹¹, 黄仲义¹, 王斌^{1,2△}

(1. 上海市静安区中心医院, 上海 200040; 2. 复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

摘要:目的 探讨二甲双胍增敏吉西他滨对人胰腺癌细胞 aspc-1 的抑制作用及其机制。方法 将细胞分为空白对照组(A组, 常规培养液), 二甲双胍组(B组, 含 5.00 mmol/L 二甲双胍培养液), 吉西他滨组(C组, 含 2.50 μg/L 吉西他滨培养液), 联合用药组(D组, 含 5.00 mmol/L 二甲双胍和 2.50 μg/L 吉西他滨培养液)。各组细胞处理后均继续培养 48 h。采用流式细胞术检测细胞凋亡情况, 采用免疫印迹(Western blot)法检测 P-糖蛋白(P-gp)、缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)、磷酸化核因子 κB(p-NF-κB)蛋白表达水平。结果 与 A 组比较, C 组和 D 组细胞凋亡率均显著升高($P < 0.05$); 与 C 组比较, D 组细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$)。与 A 组比较, B 组细胞 P-gp, HIF-1α, p-NF-κB p65 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$), C 组以上指标均显著升高($P < 0.05$); 与 C 组比较, D 组以上指标均显著降低($P < 0.05$)。结论 二甲双胍可增强吉西他滨抑制胰腺癌细胞 aspc-1 的作用, 其作用机制可能与下调 P-gp 表达而增强 aspc-1 对吉西他滨的敏感性相关。

关键词:二甲双胍; 吉西他滨; 胰腺癌细胞; P-糖蛋白; 缺氧诱导因子-1α; 作用机制

Metformin Sensitizing the Inhibitory Effect of Gemcitabine on Human Pancreatic Cancer Cells and Its Mechanism

ZHANG Xiaodan¹, LI Guanghui¹, YUAN Yuan¹, WANG Liping¹, HUANG Zhongyi¹, WANG Bin^{1,2}

(1. Jing'an District Center Hospital, Shanghai, China 200040; 2. Huashan Hospital of Fudan University, Shanghai, China 200040)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of metformin in enhancing the sensitivity of the inhibitory effect of gemcitabine on human pancreatic cancer cells (aspc-1). **Methods** Cells were divided into the blank control group (group A, conventional culture medium), metformin group (group B, conventional culture medium with 5.00 mmol/L metformin), gemcitabine group (group C, conventional culture medium with 2.50 μg/L gemcitabine), and combined group (group D, conventional culture medium with 5.00 mmol/L metformin + 2.50 μg/L gemcitabine). After treatment, cells in each group were cultured for 48 h. Cell apoptosis was detected by the flow cytometry, and the expression levels of P-glycoprotein (P-gp), hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α), and phosphorylated nuclear factor κB (p-NF-κB) proteins were detected by the Western blot. **Results** Compared with those in group A, the apoptosis rates of cells in groups C and D significantly increased ($P < 0.05$). Compared with those in group C,

*基金项目:上海市临床药学重点专科建设项目[沪卫计药政[2018]9号];上海市静安区医学科研课题[2017MS03];上海市静安区医学重点学科建设项目[2024ZD01]。

第一作者:张晓丹,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为临床药学与感染、化学治疗药物,(电子信箱)zyp0083@163.com。

△通信作者:王斌,女,硕士研究生,主任药师,研究方向为临床药学与药品不良反应机制,(电子信箱)wangbin@huashan.org.cn。

- [12] 朱明了,郑珍,楼恩哲,等. 大蒜阿霍烯抗胃癌的作用及分子机制[J]. 中国应用生理学杂志, 2021, 37(5): 514-519.
- [13] LI H, JEONG JH, KWON SW, et al. Z-Ajoene Inhibits Growth of Colon Cancer by Promotion of CK1α Dependent β-Catenin Phosphorylation[J]. Molecules, 2020, 25(3): 703.
- [14] LEE H, HEO JW, KIM AR, ET AL. Z-ajoene from Crushed Garlic Alleviates Cancer-Induced Skeletal Muscle Atrophy[J]. Nutrients, 2019, 11(11): 2724.
- [15] CHO JS, RYU JH, SURH YJ. Ajoene, a Major Organosulfide Found in Crushed Garlic, Induces NAD(P)H: Quinone Oxidoreductase Expression Through Nuclear Factor E₂-related Factor-2 Activation in Human Breast Epithelial Cells[J]. J Cancer Prev, 2019, 24(2): 112-122.
- [16] KASCHULA CH, TUVERI R, NGARANDE E, et al. The garlic compound ajoene covalently binds vimentin, disrupts the vimentin network and exerts anti-metastatic activity in cancer cells[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 248.
- [17] PEREZ HA, DE LA ROSA M, APITZ R. In vivo activity of ajoene against rodent malaria[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1994, 38(2): 337-339.
- [18] 周广勇. 黑大蒜中阿霍烯的产生及其降血压作用[D]. 南京: 南京工业大学, 2011.
- [19] 周广勇, 缪冶炼, 陈介余, 等. 黑大蒜贮藏中主要成分及自由基清除能力的变化[J]. 中国食品学报, 2010, 10(6): 64-71.
- [20] 黄伟昌, 张佳俐. 一种大蒜中阿霍烯的提取分离方法: 中国, 201710715908.4[P]. 2019-12-20.
- [21] 葛发欢. 中药超临界二氧化碳萃取技术研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014: 18-19.
- [22] 史庆龙, 李海池, 蒋华壮, 等. 超临界 CO₂ 萃取对牛蒡子油脂及拉帕酚 F 的影响[J]. 化学试剂, 2021, 43(10): 1322-1328.

(收稿日期: 2024-04-20; 修回日期: 2025-06-07)

the apoptosis rate of cells in group D significantly increased ($P < 0.05$). Compared with those in group A, the expression levels of P - gp, HIF - 1 α , and p - NF - κ B p65 proteins in group B significantly decreased ($P < 0.05$), while the above indexes in group C significantly increased ($P < 0.05$); compared with those in group C, the above indexes in group D significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Metformin can enhance the inhibitory effect of gemcitabine on human pancreatic cancer cell aspc - 1, and its mechanism may be related to the down - regulation of P - gp to enhance the sensitivity of aspc - 1 to gemcitabine.

Key words: metformin; gemcitabine; pancreatic cancer cells; P - glycoprotein; hypoxia inducible factor - 1 α ; mechanism

胰腺癌为全球癌症死亡的第七大原因^[1],胰腺癌细胞对化学治疗(简称化疗)药物有耐药性,导致许多传统抗肿瘤药物治疗失败。吉西他滨为胞苷类似物,通过遏制DNA复制来抑制细胞生长,是治疗胰腺癌的一线药物。但由于内在耐药性和环境因素,吉西他滨耐药性在治疗开始的几周内就会产生。有研究表明,膜多重耐药(MDR)转运体的表达与耐药有关^[2]。P - 糖蛋白(P - gp)是近年来研究较多的外排蛋白,其可通过外排减少抗肿瘤药物在细胞内的积累,从而导致耐药^[3]。P - gp是导致吉西他滨对胰腺癌耐药的重要原因^[4-6]。二甲双胍是一种双胍类降血糖药物,治疗2型糖尿病的疗效良好,其还可通过抑制P - gp的表达发挥抗肿瘤作用^[7],治疗胰腺癌有一定效果^[8-9]。但其是否可通过抑制P - gp的表达,从而增加抗肿瘤药物对胰腺癌细胞的抑制作用尚未见报道。故本研究中探讨了二甲双胍是否能通过抑制外排泵而增强人胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感作用,从而达到抗肿瘤的目的。现报道如下。

1 仪器、试剂与细胞株

1.1 仪器

Forma3111型细胞培养箱(美国Thermo公司);EPOCH型酶标仪(美国BioTek公司);BSC - 1600 II A2型生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司);FACSClibur型流式细胞仪(美国BD公司);2500型凝胶成像仪(上海天能公司);Mini - PROTEAN型垂直电泳仪(美国BioRad公司);5424R型自动离心机 - 高速冻冷离心机(德国Eppendorf Centrifuge公司,转速为15 000 r/min)。

1.2 试剂

二甲双胍(美国Sigma - Aldrich公司,批号为LRAC3162);吉西他滨(美国MCE公司,批号为79641);1640培养液(美国Hyclone公司,批号为AF29546230);胎牛血清(批号为42F6590K),胰酶(批号为70101000),均购自美国Gibco Thermo公司;青霉素(100 U/mL) - 链霉素(100 mg/mL)溶液(上海碧云天生物技术有限公司,批号为080420200826);细胞计数试剂盒(CCK - 8,北京兰杰柯科技有限公司,批号为70101000);膜联蛋白 - 荧光素异硫氰酸酯/碘化丙啶 Annexin V - FITC/PI凋亡试剂盒(杭州联科生物科技股份有限公司,批号为P1801515);十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)预制胶(上海天能科技有限公司,批号为

072220100803);无蛋白快速封闭液(上海雅酶生物科技有限公司,批号为03551200);P - gp抗体(批号为00094745),缺氧诱导因子 - 1 α (HIF - 1 α)抗体(批号为00100565),均购自武汉三鹰生物技术有限公司;核因子 κ B(NF - κ B)p65抗体(批号为16),磷酸化NF - κ B(p - NF - κ B)p65抗体(批号为17),均购自美国Cell Signaling Technology公司; β - 肌动蛋白(β - actin)抗体(批号为12w2944),山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(H + L)辣根过氧化物酶(HRP)(批号为56j9958),均购自美国Affinity Biosciences公司。

1.3 细胞株

人胰腺癌细胞株(aspc - 1)由上海交通大学附属第一人民医院临床转化研究院馈赠。

2 方法与结果

2.1 对细胞增殖的影响

细胞培养:从液氮中取出1支aspc - 1进行细胞复苏,用含10%胎牛血清和1%青霉素 - 链霉素的1640培养液,将复苏后的aspc - 1分装于T25细胞培养瓶中,将细胞置5%CO₂、37℃的培养箱中,培养24 h后更换新鲜培养液。当细胞培养至对数生长期(融合度约为80%)时进行传代培养或细胞计数。

CCK - 8法检测细胞增殖率:取对数生长期的细胞,以5 000个/孔的浓度接种至96孔板,每孔加100 μ L培养液,置培养箱中培养24 h,弃上清液,进行分组处理(分别设置5个梯度浓度,吉西他滨0.032, 0.160, 0.800, 4.000, 20.000 μ g/L,二甲双胍1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00 mmol/L),每组设5个复孔,继续培养48 h,弃培养液,每孔加100 μ L培养液和10 μ L CCK - 8溶液,避光持续培养1 h。采用酶标仪于450 nm波长处测定吸光度(OD),并计算细胞增殖率。细胞增殖率(%) = (OD_{实验组} - OD_{空白组}) / (OD_{对照组} - OD_{空白组}) $\times$ 100%。结果随着吉西他滨和二甲双胍浓度的增加,细胞增殖率均不断下降,详见图1。将各浓度对细胞的增殖率导入Prism Graphpad 8.0软件,绘制细胞活性与对数浓度对应曲线,计算吉西他滨和二甲双胍的半数抑制浓度(IC₅₀)。结果二甲双胍和吉西他滨的IC₅₀分别为13.88 mmol/L和5.872 μ g/L。

2.2 对细胞凋亡的影响

联合组合指数(CI)分析:评估二甲双胍和吉西他

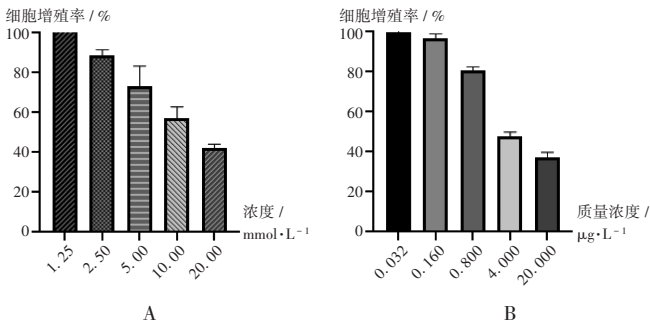


图 1 二甲双胍与吉西他滨对 aspc - 1 细胞的增殖率
A. Metformin B. Gemcitabine

Fig. 1 The proliferation rate of metformin and gemcitabine on aspc - 1 cells

滨不同浓度组合的药理学相互作用,根据多药效应方程计算二甲双胍和吉西他滨联合用药的增效、加和或拮抗作用,并用 CI 进行量化^[10]。 $CI = D_1 / (Dx)_1 + D_2 / (Dx)_2 + D_1 D_2 / ((Dx)_1 (Dx)_2)$ 式中, D_1 和 D_2 分别为联合用药时产生相同效应所需的药物 1 和药物 2 的剂量, $(Dx)_1$ 和 $(Dx)_2$ 分别为药物 1 和药物 2 产生 $x\%$ 效应所需的剂量^[7]。其中, $CI = 1$ 表示两药具有加和作用, $CI > 1$ 表示两药具有拮抗作用, $CI < 1$ 表示两药具有协同作用,且 CI 越小则协同作用越强^[10]。根据药物的 IC_{50} ,采用细胞试验常用的倍比稀释法设计梯度浓度进行交叉试验,以验证剂量 - 效应关系。参照本研究中 2 种药物的联合用药效应 (Fa),考虑到剂量过大导致毒性而影响机制研究,故对于主要治疗药物吉西他滨,选取 IC_{50} 附近并向下的 3 个梯度浓度 (1.25, 2.50, 5.00 $\mu\text{g/L}$),对于联合药物二甲双胍选取细胞抑制率较低的 3 个梯度浓度 (1.25, 2.50, 5.00 mmol/L),通过 CCK - 8 法检测各浓度及交叉联合作用下 aspc - 1 细胞的抑制率,利用 CalcuSyn 2.0 软件计算不同质量浓度吉西他滨与不同浓度二甲双胍的 CI ,根据最小 CI 值选联合作用最强的联合用药组合进行下一步试验。根据最小 CI 得出最佳联合用药的浓度分别为二甲双胍 5.00 mmol/L 和吉西他滨 2.50 $\mu\text{g/L}$,并以此浓度检测细胞的凋亡情况。详见表 1。

细胞分组与处理:条件培养 24 h 后,根据不同干预措施将 aspc - 1 分为空白对照组 (A 组,加常规培养液),二甲双胍组 (B 组,加含 5.00 mmol/L 二甲双胍的培养液),吉西他滨组 (C 组,加含 2.50 $\mu\text{g/L}$ 吉西他滨培养液),联合用药组 (D 组,加含 5.00 mmol/L 二甲双胍及 2.50 $\mu\text{g/L}$ 吉西他滨的培养液),继续培养 48 h。

流式细胞仪检测细胞凋亡率:取对数生长期的细胞,以 1×10^5 个 / 孔浓度接种至 12 孔板,每孔加 1 mL 培养液,置培养箱中培养 24 h,弃上清液,进行分组处理,每组设 3 个复孔,继续培养 48 h,收集各组细胞 (含上清

表 1 吉西他滨与二甲双胍不同浓度交叉联合的联合用药效应 (Fa) 与联合组合指数 (CI)

Tab. 1 Fractional effect (Fa) and combination index (CI) of different concentrations of cross combination therapy of gemcitabine and metformin

二甲双胍 (mmol/L)	吉西他滨 (μg/L)	Fa	CI	二甲双胍 (mmol/L)	吉西他滨 (μg/L)	Fa	CI
1.25	1.25	0.559	0.438	2.50	5.00	0.815	0.502
1.25	2.50	0.695	0.471	5.00	1.25	0.698	0.312
1.25	5.00	0.812	0.501	5.00	2.50	0.814	0.282
2.50	1.25	0.660	0.318	5.00	5.00	0.837	0.450
2.50	2.50	0.712	0.456				

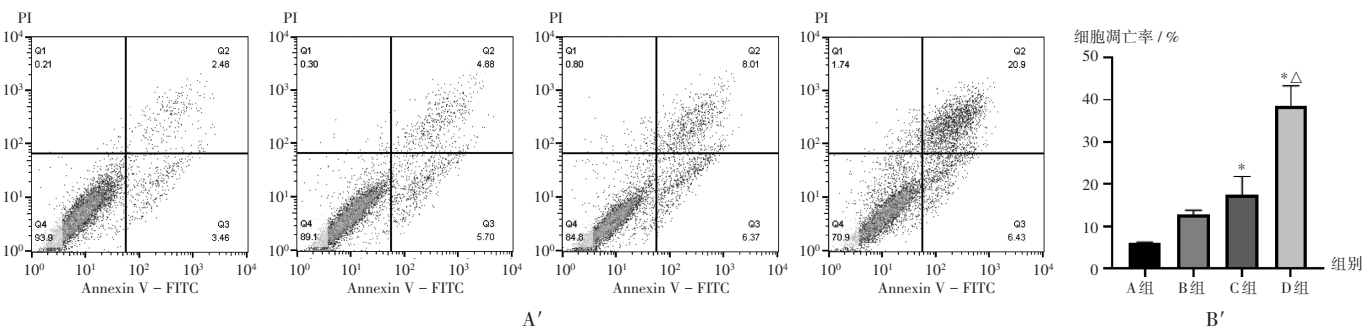
液脱落细胞),置 1.5 mL 离心管中,用预冷的无菌磷酸盐缓冲液 (PBS) 离心洗涤 2 次,使用 Annexin V - FITC / PI 凋亡试剂盒,将细胞重悬于 500 μL $1 \times$ 结合缓冲液中,并于每管中加 5 μL Annexin V - FITC 和 10 μL PI,室温避光孵育 5 min。采用流式细胞仪检测细胞的荧光情况,采用 FlowJo V10 软件分析。以 Annexin V - FITC 染色阳性和 PI 染色阴性或阳性的细胞百分比计算细胞早期和晚期的总凋亡率。

统计学处理:采用 GraphPad Prism 8 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,采用 Shapiro - Wilk 检验获取正态分布,组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 Dunnett 多重比较检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

实验结果:与 A 组比较, C 组和 D 组的细胞凋亡率均显著升高 ($P < 0.05$); 与 C 组比较, D 组的细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$)。详见图 2。

2.3 对 P - gp, HIF - 1 α , p - NF - κ B 蛋白表达水平的影响

免疫印迹 (Western blot) 法测定 P - gp, HIF - 1 α , p - NF - κ B 信号通路的蛋白表达水平:取对数生长期细胞,以 3.0×10^5 个 / 孔接种至 6 孔板,每孔加 3 mL 培养液,置培养箱中培养 24 h,置无菌操作台,各组细胞进行加药处理,置培养箱中继续培养 48 h,将细胞 (连同上清液脱落细胞) 收集于 5 mL 离心管中,用预冷的 PBS 洗涤 2 次,于细胞沉淀中每管分别加 100 μL 裂解液 (含 1% 蛋白酶抑制剂和 1% 磷酸酶抑制剂),冰上摇匀,裂解 20 min,收集裂解液,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 (离心力为 14 000 g) 15 min 后留取上清液,采用双缩脲 (BCA) 法测定蛋白浓度,将样品浓度与一定浓度的上样缓冲液混合,调节各样本总蛋白浓度相等,4 $^{\circ}\text{C}$ 低速离心后,70 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,混匀,分装,置 - 80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,每孔上样 10 μg 蛋白,使其在 4% ~ 20% 的 SDS - PAGE 中进行电泳,分离后的蛋白通过湿法电转法转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上,用无蛋白快速封闭液封闭 30 min 后,4 $^{\circ}\text{C}$ 下与一抗孵育过夜,包括 P - gp (1:1 000, V/V), HIF - 1 α (1:500, V/V), NF - κ B p65 和 p - NF - κ B p65 (1:2 000, V/V), 内参蛋



A'. 流式细胞图 B'. 定量统计图 ($\bar{X} \pm s, n = 3$)
注:与 A 组比较,* $P < 0.05$;与 C 组比较,△ $P < 0.05$ 。表 2 同。

图 2 各组细胞凋亡情况比较

A'. Flow cytogram B'. Quantitative statistical chart ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Note: Compared with those in group A,* $P < 0.05$; compared with those in group C,△ $P < 0.05$ (for Fig. 2 and Tab. 2).

Fig. 2 Comparison of cell apoptosis in each group

白 β -actin(1:10 000, V/V)。孵育后 PVDF 膜用含 0.1% 吐温-20 的缓冲液洗涤 3 次,每次 10 min,与二抗室温孵育 1.0~1.5 h。使用增强型化学发光试剂盒,通过凝胶成像、拍照,采用 Image J 软件检测蛋白灰度值。

统计学处理:与 2.2 项下相同。

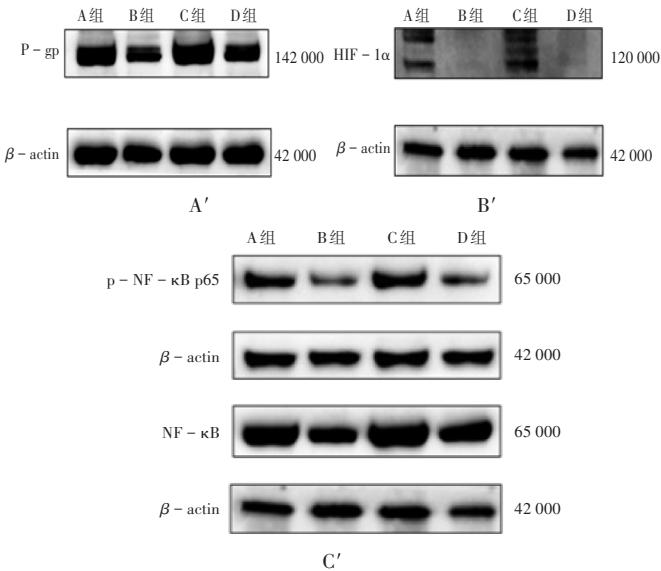
实验结果:与 A 组比较,C 组 P-gp, HIF-1 α , p-NF- κ B 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),B 组以上指标均显著降低($P < 0.05$);与 C 组比较,D 组以上指标均显著降低($P < 0.05$)。表明二甲双胍可降低 P-gp, HIF-1 α , p-NF- κ B p65 蛋白表达水平,而吉西他滨能升高以上指标蛋白表达水平,二甲双胍则能减弱吉西他滨对以上指标蛋白表达水平的上调作用。详见表 2 和图 3。

表 2 各组蛋白表达水平比较 ($\bar{X} \pm s, n = 5$)

Tab. 2 Comparison of expression levels of proteins in each group ($\bar{X} \pm s, n = 5$)			
组别	P-gp/ β -actin	HIF-1 α / β -actin	p-NF- κ B p65/NF- κ B
A 组	0.97 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.24	0.91 $\pm$ 0.22
B 组	0.53 $\pm$ 0.22*	0.60 $\pm$ 0.17*	0.39 $\pm$ 0.32*
C 组	1.38 $\pm$ 0.22*	1.50 $\pm$ 0.31*	1.53 $\pm$ 0.19*
D 组	0.74 $\pm$ 0.17 Δ	0.89 $\pm$ 0.19 Δ	1.18 $\pm$ 0.05 Δ

3 讨论

胰腺癌的恶性程度高,侵袭性强,生长迅速,早期诊断难,手术切除率低(15%),预后极差,5 年存活率仅 4%~6%。临床上胰腺癌患者在确诊时多已处于晚期,无法通过手术切除治疗,故药物化学治疗(简称化疗)在胰腺癌综合治疗中占据重要地位。目前,治疗胰腺癌的有效药物有限,吉西他滨为首选药物,但治疗过程中胰腺癌细胞对吉西他滨易产生获得性耐药,且多表现为多药耐药^[2],导致药效有限^[11-12]。但多种化疗药物联用的效果也欠佳,且不良反应较多^[13]。胰腺癌多药耐药的机制主要为药物运输泵过表达,而将药物泵出细胞



A'. P-gp B'. HIF-1 α C'. p-NF- κ B p65

图 3 各组蛋白表达差异 ($\bar{X} \pm s, n = 5$)

A'. P-gp B'. HIF-1 α C'. p-NF- κ B p65

Fig. 3 Differences in protein expression levels in each group ($\bar{X} \pm s, n = 5$)

外^[13]。其中,三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运蛋白(ABC 转运体)超家族成员介导 MDR 基因编码的膜蛋白 P-gp 的高表达是导致肿瘤药物外排的重要机制。P-gp 具有 ATP 结合区域,以主动转运方式介导底物分子的耗能转运,主要功能是防止机体对外来物质的摄入,故也限制了底物药物进入肿瘤细胞而介导耐药性的产生,其介导的胰腺癌耐药已在很多研究中得到证实^[5-6]。研究表明,通过下调 P-gp 的表达可增加胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性^[4,14-15]。可见,通过抑制 P-gp 的表达可能是一种逆转胰腺癌细胞对吉西他滨耐药性的靶点。

二甲双胍作为治疗 2 型糖尿病的安全、有效的经典药物,在全球已有 50 多年应用历史。近年来,二甲双胍的抗肿瘤作用也逐渐受到关注,其对胰腺癌患病风险

及生存时间上的获益,以及在胰腺癌细胞中对化疗药物的增敏作用研究^[16-18]均有报道。研究表明,在肝癌细胞中二甲双胍可通过活化腺苷一磷酸活化蛋白激酶(AMPK)抑制 Yes 相关蛋白(YAP)的表达,继而抑制磷脂酰肌醇3-激酶-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(PI3K-Akt)-HIF-1 α 信号通路,以下调P-gp的表达,增强5-氟尿嘧啶(5-FU)的疗效^[17];或通过转录激活因子4/信号传导因子和转录激活因子3(ATF4/STAT3)下调肝癌细胞耐药蛋白ATP结合盒转运蛋白G2(ABCG2)和P-gp的表达,从而抑制肝癌细胞对索拉非尼产生耐药,降低索拉非尼的 IC_{50} ,促进肝癌细胞凋亡^[7];同时,二甲双胍还可通过抑制NF- κ B而下调P-gp的表达,以逆转肝癌细胞及人乳腺癌细胞(MCF-7)对阿霉素的耐药性^[19]。可见,二甲双胍在肝癌细胞及乳腺癌细胞中可通过AMPK信号通路下调P-gp的表达,以逆转肿瘤细胞对P-gp底物化疗药物的耐药性。

本研究结果显示,二甲双胍联合吉西他滨不仅能增强吉西他滨对胰腺癌细胞aspc-1的抑制作用,还能升高胰腺癌细胞的凋亡率,表明吉西他滨对人胰腺癌细胞aspc-1有增敏作用;吉西他滨诱导的aspc-1细胞中P-gp表达上调,表明吉西他滨的耐药性与P-gp有相关性;而二甲双胍能抑制吉西他滨诱导的P-gp表达上调,这可能是二甲双胍增强吉西他滨敏感性的主要原因。二甲双胍除抑制P-gp外,还可下调NF- κ B磷酸化比例及HIF-1 α 表达,表明其可能通过HIF-1 α /NF- κ B途径发挥作用。

综上所述,二甲双胍可能通过抑制HIF-1 α /NF- κ B信号通路下调P-gp的表达,增强人胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性,增强其抗胰腺癌作用。

参考文献

- [1] KHALAF N, EL-SERAG HB, ABRAMS HR. Burden of pancreatic cancer: from epidemiology to practice[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2021, 19(5): 876-884.
- [2] YANG Z, CHEN F, WEI D, et al. EGR1 mediates MDR1 transcriptional activity regulating gemcitabine resistance in pancreatic cancer[J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 268.
- [3] KARTHIKA C, SURESHKUMAR R, ZEHRABI M, et al. Multi-drug Resistance of Cancer Cells and the Vital Role of P-Glycoprotein[J]. Life (Basel), 2022, 12(6): 897.
- [4] LI Y, XU C, HAN H, et al. Aronia Berry Extract Modulates MYD88/NF- κ B/P-Glycoprotein Axis to Overcome Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(7): 911.
- [5] KONG L, DU J, GU J, et al. Gemcitabine-Loaded Albumin Nanoparticle Exerts An Antitumor Effect on Gemcitabine-Resistant Pancreatic Cancer Cells Induced by MDR1 and MRP1 Overexpression *in Vitro*[J]. Front Surg, 2022, 9: 890412.
- [6] EL-MAHDY HA, EL-HUSSEINY AA, KANDIL YI, et al. Diltiazem potentiates the cytotoxicity of gemcitabine and 5-fluorouracil in PANC-1 human pancreatic cancer cells through inhibition of P-glycoprotein[J]. Life Sci, 2020, 262: 118518.
- [7] HU Z, ZHAO Y, LI L, et al. Metformin promotes ferroptosis and sensitivity to sorafenib in hepatocellular carcinoma cells via ATF4/STAT3[J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(8): 6399-6413.
- [8] DE A, KUPPUSAMY G. Metformin in breast cancer: Preclinical and clinical evidence[J]. Curr Probl Cancer, 2020, 44(1): 100488.
- [9] EIBL G, ROZENGURT E. Metformin: Review of epidemiology and mechanisms of action in pancreatic cancer[J]. Cancer Metastasis Rev, 2021, 40(3): 865-878.
- [10] CHOU TC. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method[J]. Cancer Res, 2010, 70(2): 440-446.
- [11] CHEN B, XU X, ZHENG K, et al. Konjac glucomannan reverses multi-drug resistance of HepG2/5-FU cells by suppressing AKT signaling and increasing p53 expression[J]. Oncol Lett, 2020, 20(3): 2105-2112.
- [12] ZHANG T, LI N, WANG R, et al. Enhanced therapeutic efficacy of doxorubicin against multidrug-resistant breast cancer with reduced cardiotoxicity[J]. Drug Deliv, 2023, 30(1): 2189118.
- [13] GIROLIMETTI G, BALENA B, CORDELLA P, et al. Characterization of Chemoresistance in Pancreatic Cancer: A Look at MDR-1 Polymorphisms and Expression in Cancer Cells and Patients[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25: 8515.
- [14] TONG H, HUANG Z, CHEN H, et al. Emodin Reverses Gemcitabine Resistance of Pancreatic Cancer Cell Lines Through Inhibition of IKK β /NF- κ B Signaling Pathway[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 9839-9848.
- [15] LIU J, HU G, GONG Y, et al. Silencing of TRPM8 inhibits aggressive tumor phenotypes and enhances gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer[J]. Pancreatol, 2018, 18(8): 935-944.
- [16] SHI Y, HE Z, JIA Z, et al. Inhibitory effect of metformin combined with gemcitabine on pancreatic cancer cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(4): 2921-2928.
- [17] TIAN Y, TANG B, WANG C, et al. Metformin mediates resensitization to 5-fluorouracil in hepatocellular carcinoma via the suppression of YAP[J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 46230-46241.
- [18] LEE ACK, LAU PM, KWAN YW, et al. Mitochondrial Fuel Dependence on Glutamine Drives Chemo-Resistance in the Cancer Stem Cells of Hepatocellular Carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7): 3315.
- [19] WU W, YANG JL, WANG YL, et al. Reversal of multidrug resistance of hepatocellular carcinoma cells by metformin through inhibiting NF- κ B gene transcription[J]. World J Hepatol, 2016, 8(23): 985-993.

(收稿日期: 2024-09-10; 修回日期: 2025-03-29)