四川大学学报（医学版） 2026，57（4）：1022－1031
J Sichuan Univ（Med Sci）

在线全文

·论 著·

二甲双胍调控AKT/mTOR通路抑制前列腺癌的机制

张正坤[1]，全治有[1]，戴盼盼[1]，许可仪[2]，殷照茹[1]，陈 丹[1]，耿瑞蔓[1]，纪旭旭[1]，王定学[1]，陈 述[1]，陈利弘[1]，刘 戟[1△]

1. 四川大学华西基础医学与法医学院 医学生物化学与分子生物学教研室（成都 610041）；2. 西南医科大学临床医学院（泸州 646000）

【摘要】 目的 探讨二甲双胍对前列腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响，并分析其是否通过调控人类抗原R（human antigen R, HuR）及AKT/mTOR信号通路发挥抗肿瘤作用。**方法** 取人前列腺癌细胞PC3和22RV1细胞系，采用二甲双胍干预，并结合HuR敲低和过表达实验进一步验证其作用机制。采用细胞计数试剂盒-8（cell counting kit-8, CCK-8）检测细胞增殖活性，Transwell实验检测细胞迁移和侵袭能力，实时荧光定量PCR（quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR）和Western blot检测HuR及AKT/mTOR信号通路相关蛋白的表达水平。**结果** 二甲双胍干预可降低PC3和22RV1细胞的增殖、迁移和侵袭能力，并抑制AKT/mTOR通路相关蛋白的表达（P<0.05）。敲低HuR后，前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力同样下降，AKT/mTOR通路活性受到抑制。相反，过表达HuR可部分减弱二甲双胍对前列腺癌细胞恶性生物学行为及AKT/mTOR通路的抑制作用。此外，二甲双胍可呈浓度依赖性下调PC3和22RV1细胞中HuR的mRNA和蛋白表达水平（P<0.01）。**结论** 二甲双胍可能通过下调HuR表达，抑制AKT/mTOR信号通路活化，从而降低前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

【关键词】 前列腺癌 二甲双胍 人类抗原R AKT mTOR

Metformin Inhibits Prostate Cancer Progression via Regulation of the AKT/mTOR Signaling Pathway

Zhang Zhengkun[1], *Quan Zhiyou*[1], *Dai Panpan*[1], *Xu Keyi*[2], *Yin Zhaoru*[1], *Chen Dan*[1], *Geng Ruiman*[1], *Ji Xuxu*[1], *Wang Dingxue*[1], *Chen Shu*[1], *Chen Lihong*[1], *Liu Ji*[1△]. 1. *Department of Biochemistry and Molecular Biology, West China School of Basic Medical Sciences & Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China*; 2. *School of Clinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*

△ Corresponding author

[Abstract] Objective To investigate the effects of metformin on the proliferation, migration, and invasion of prostate cancer cells, and to determine whether its antitumor effects are mediated by regulation of human antigen R (HuR) and the AKT/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **Methods** Human prostate cancer cell lines PC3 and 22RV1 were used as the research models and were treated with metformin. HuR knockdown and overexpression experiments were performed to further verify the underlying mechanism. Cell proliferation was assessed using the cell counting kit-8 (CCK-8) assay. Cell migration and invasion were evaluated by Transwell assays. The expression levels of HuR and AKT/mTOR pathway-related proteins were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting. **Results** Metformin treatment reduced the proliferation, migration, and invasion abilities of PC3 and 22RV1 cells, and inhibited the expression of proteins associated with the AKT/mTOR signaling pathway (P < 0.05). HuR knockdown also decreased the proliferation, migration, and invasion abilities of prostate cancer cells and inhibited AKT/mTOR pathway activity. In contrast, HuR overexpression partially attenuated the inhibitory effects of metformin on the malignant biological behaviors of prostate cancer cells and its inhibitory effects on the AKT/mTOR signaling pathway. In addition, metformin downregulated HuR mRNA and protein expression levels in PC3 and 22RV1 cells in a concentration-dependent manner (P < 0.01). **Conclusion** Metformin may inhibit the activation of the AKT/mTOR signaling pathway by downregulating HuR expression, thereby reducing the proliferation, migration, and invasion of prostate cancer cells.

[Key words] Prostate cancer Metformin Humanantigen R AKT mTOR

前列腺癌（prostate cancer, PCa）是男性泌尿生殖系统中最常见的恶性肿瘤。根据GLOBOCAN统计，2022年新增PCa病例1 466 680例，死亡病例占男性所有癌症死亡病例的4.1%[1]，2022年中国前列腺癌新发病例约13.4万例，死亡病例约4.8万例[2]。因此，PCa逐渐成为威胁中老年男性健康的主要问题。

△ 通信作者

出版日期：2026-07-20

二甲双胍是治疗2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的一线药物, 已经在临床上使用超过50年, 具有良好的安全性[3]。2005年, Evans等[4]研究发现T2DM患者在二甲双胍治疗后发生癌症的风险较低。从那时起, 越来越多的研究表明二甲双胍可以抑制许多类癌症的发展[5-8]。同时, 二甲双胍对亚洲T2DM患者中的PCa具有潜在的保护作用。与其他抗糖尿病药物相比, 二甲双胍可以显著降低T2DM患者PCa的风险, 改善预后, 并延缓PCa的进展[9-10]。先前的研究表明, 二甲双胍通过激活AMPK、抑制mTOR信号传导和蛋白质合成以及阻断细胞周期进展作为抗癌剂[11-12]。

RNA结合蛋白(RNA bingding protein, RBP)可通过与mRNA的特异性结合直接或间接调节mRNA的功能, 例如介导mRNA运输、定位和翻译[13-14]。HuR是一种常见的RNA 结合蛋白, 通过与富含腺嘌呤-尿嘧啶元件结合来调节mRNA的稳定性和转录。HuR在包括PCa在内的几种癌症中过表达[15]。此外, HuR表达的上调与肿瘤侵袭和不良预后有关[16], 也可以促进肿瘤细胞的增殖、迁移和血管生成[17-18]。

在此研究中, 我们验证二甲双胍对PCa细胞活性的影响, 通过生物信息学分析、体外实验探索HuR在二甲双胍调控PCa细胞中的关键作用。

1　材料与方法

1.1　细胞培养和转染

PCa细胞系22RV1和PC3购自美国典型培养物保藏中心(ATCC, 美国), 分别在RMPI 1640和DMEM(均购自美国Gibco公司)培养基中培养。所有培养基均加入10%胎牛血清(中乔新周生物技术, 中国)和1%青链霉素双抗(中乔新周生物技术, 中国)。二甲双胍购自德国Sigma, 并溶解于PBS(Gibco, 美国)中。

敲低 HuR 质粒(siHuR)及其阴性对照siRNA(siNC)购自中国RiboBio公司, 过表达HuR质粒(pHuR)及其阴性对照质粒(pNC)购自中国GenePharma公司。使用美国Invitrogen公司Lipofectamine 2000™转染细胞24 h。

1.2　CCK8细胞毒性测定

将22RV1和PC3细胞接种于96孔板中培养, 当细胞生长到密度约70%时, 并向其分别加入不同浓度(0、5、10、20、30、40、50 mmol/L)的二甲双胍、*pHuR*质粒(终浓度1 μg/mL)、*siHuR*(终浓度50 nmol/L); 联合处理组转染*pHuR*质粒后加入20 mmol/L二甲双胍, 处理24 h和48 h, 在37 ℃、体积分数5%CO_2浓度的条件下, 将10 μL CCK-8试剂加入到每个孔中孵育2 h。使用全波长酶标仪, 450 nm处测量吸光度。

1.3　细胞迁移和侵袭测定

将22RV1和PC3细胞悬浮液接种到一个包被或未包被Matrigel的小室中, 将含有体积分数20%FBS的培养基加入下腔, 孵育24或48 h。用质量分数0.1%的晶紫染色15 min, 37 ℃干燥, 并在显微镜下随机选五个视野拍照。细胞迁移和侵袭百分比由ImageJ软件计算。

1.4　细胞周期测定

将22RV1和PC3细胞分为二甲双胍0、5、20和50 mmol/L组, 处理24 h后收集细胞, 使用细胞周期试剂盒(诺唯赞, 中国), 在每管中加入500 μL PI染色溶液, 使细胞完全悬浮, 于37 ℃避光染色30 min。用BD FACS Celesta检测细胞周期, 并使用Modifit软件分析G_0/G_1相的比例。

1.5　Western blot

根据实验目的, 设置RWPE-1、LNCaP、22RV1和PC3细胞基础表达检测组; 二甲双胍终浓度为0、5、20和50 mmol/L的处理组, 处理24 h; pNC、*pHuR*(均为1 μg/mL)、siNC和*siHuR*(均为50 nmol/L)转染组, 转染48 h; 以及pNC、*pHuR*和*pHuR*+M20组, 其中联合组转染*pHuR* 24 h后加入20 mmol/L 二甲双胍继续处理24 h。提取细胞总蛋白, 经SDS-PAGE分离后转移至NC膜。质量分数5%脱脂牛奶封闭1 h, 分别加入按比例稀释的HuR、CDK4、Bcl-2、Bax、AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR及β-actin一抗孵育并在4 ℃下过夜, 其中β-actin作为内参蛋白。而后与稀释度为1∶4 000的二抗孵育1 h; 加入ECL(诺唯赞, 中国)孵育2 min, 使用Bio-Rad ChemiDoc XRS(Bio-Rad, 美国)拍照。

1.6　细胞凋亡测定

为了确定二甲双胍是否通过细胞凋亡降低肿瘤细胞的活力, 将22RV1和PC3细胞分为二甲双胍 0、5、20和50 mmol/L组, 处理24 h后进行Annexin Ⅴ-FITC/PI细胞凋亡检测。使用细胞凋亡检测试剂盒(诺唯赞, 中国), 将重悬细胞与Annexin Ⅴ-FITC和PI染色溶液混合, 室温避光染色10 min。在BD FACS Celesta分析, 并用FlowJo计算细胞凋亡率。

1.7　生物信息学分析

从Oncomine、Proteinatlas和GEPIA数据库下载数据进行生物信息学分析。分析PCa中HuR的表达情况、HuR与Gleason评分的相关性以及HuR在临床病理切片中的表达水平。

1.8　RNA提取、逆转录和qRT-PCR

设置二甲双胍 0、5、20和50 mmol/L组, 药物处理

24 h; 另设置pNC、*pHuR*、siNC和*siHuR*组, 其中pNC和*pHuR*质粒终浓度均为1 μg/mL, siNC和*siHuR*终浓度均为50 nmol/L, 转染24 h后用TriZol试剂(美国 Invitrogen)提取细胞的总RNA,使用试剂盒(诺唯赞, 中国)将其逆转录成单链cDNA。然后使用合成的cDNA进行qRT-PCR: 95 ℃ 30 s, 39个循环; 95 ℃ 5 s, 57.4 ℃ 30 s。用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法定量分析*HuR*的表达。引物序列详见网络资源附件附表1。

1.9 蛋白质-蛋白质相互作用分析

从STITCH数据库(http://stitch.embl.de/)和SuperPred数据库(https://prediction.charite.de/index.php)收集二甲双胍的潜在靶蛋白。从DisGeNET(https://www.disgenet.org/)和GeneCards数据库(https://www.genecards.org/)获得PCa相关基因。使用jvenn工具交叉验证二甲双胍的靶蛋白和PCa相关的潜在靶基因。对于上述获得的186个基因, 使用String数据库(https://string-db.org/)进行KEGG富集分析, 筛选Rich Factor排名前20位的通路, 并用R语言以气泡图的形式可视化特定8个通路。蛋白质与靶蛋白之间互作预测导入Cytoscape, 来绘制蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction networks, PPI)网络。然后使用cytohubba获得前15个核心基因。

1.10 分子对接

从RCSB蛋白质数据库(http://www.pdb.org/)下载HuR的晶体结构, 并使用二甲双胍摩尔格式的三维结构, 上传到SwissDock网站进行对接预测。G评分最低的模型被认为是最优的对接模型, 并使用UCSF Chimera软件进行可视化。

1.11 统计学方法

所有实验数据均以$\bar{x}\pm s$表示, 并使用GraphPad Prism 9软件进行统计分析。两组间数据的比较采用Student's *t*检验。对于三组及以上数据的比较, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 并使用Bonferroni法进行多重比较检验校正。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二甲双胍抑制PCa细胞系的增殖、迁移和侵袭

图1A显示, 在用二甲双胍处理24 h和48 h, 两种细胞的活力以剂量依赖性方式被抑制。此外, Transwell迁移试验证明二甲双胍抑制细胞迁移率(图1B)。图1C示, 与二甲双胍孵育24 h降低了22RV1和PC3细胞的侵袭率, 上述结果差异均具有统计学意义($P<0.05$)。表明二甲双胍抑制了细胞的增殖、迁移和侵袭。

2.2 二甲双胍诱导G0/G1停滞和细胞凋亡

我们进一步研究了二甲双胍对细胞周期和凋亡的影响, 发现二甲双胍在不同程度上抑制两种细胞的细胞周期, 特别是G_0/G_1阶段停滞(图2A)。同时Western blot实验显示, CDK4的表达随着二甲双胍浓度的增加而下降, 这与流式细胞术分析结果一致(图2B)。这些数据表明, 二甲双胍可以通过控制细胞周期来抑制细胞增殖。

如图2C所示, 随着二甲双胍浓度的增加, 细胞凋亡的比例不同程度地增加。同时, 发现抗细胞凋亡蛋白Bcl-2降低, 而促细胞凋亡蛋白Bax呈现相反的趋势(图2D)。流式细胞术和Western blot实验结果证实, 二甲双胍可以通过促进细胞凋亡的发生来抑制PCa细胞的活力, 以上差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 生物信息学鉴定HuR是PCa的促进因子, 二甲双胍可抑制HuR

Oncomine的研究结果表明, 相比正常组织, HuR在PCa组织中高度表达。HuR的表达与Gleason评分呈正相关(图3A、3B)。在Proteinatlas数据库中, 临床PCa病理样本的免疫组织化学结果显示, HuR蛋白在细胞质中的表达增加。同时, 通过Western blot实验分别检测了HuR在不同恶性程度的前列腺细胞中的表达情况, 结论与Gleason评分预测一致(图3C)。这些结果表明HuR在PCa中, 尤其是恶性程度高的22RV1、PC3细胞中具有促癌作用。

为了研究二甲双胍是否可以通过靶向HuR发挥抗PCa作用, 使用qPCR和Western blot测定法检测HuR的表达。结果显示药物处理24 h后HuR在mRNA和蛋白质水平的表达随着二甲双胍浓度的增加而下降(图3D)。以上差异均有统计学意义($P<0.05$)

2.4 二甲双胍靶向HuR抑制细胞增殖、迁移和侵袭

qPCR和Western blot的结果显示, 转染*pHuR*或*siHuR*后明显影响了HuR的表达(图4A, $P<0.001$)。过表达HuR显著促进了22RV1和PC3的增殖、迁移和侵袭能力, 敲低HuR后则相反。然而, 将二甲双胍与过表达HuR共处理则逆转了其对细胞的增殖、迁移和侵袭的促进作用, 敲低HuR后则相反, 提示二甲双胍可能通过抑制HuR来降低细胞活性(图4B ~ 4D), 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.5 HuR高表达促进细胞周期进程并抑制细胞凋亡

图5A中, 在PCa的两种细胞中HuR的敲低均可诱导G_0/G_1期阻滞, 过表达HuR则减少G_1期占比, 过表达HuR与二甲双胍共处理时会减弱HuR促进细胞周期进展的能力。图5B显示在高表达HuR时周期蛋白CDK4表达水平增加, 在敲低HuR时减少, 过表达HuR与二甲双胍共处理时CDK4的表达水平降低, 以上差异均有统计学意义($P<0.05$)。这表明HuR可促进细胞周期进程, 而二甲双胍可通过抑制HuR诱导细胞周期阻滞。上调HuR可抑制细

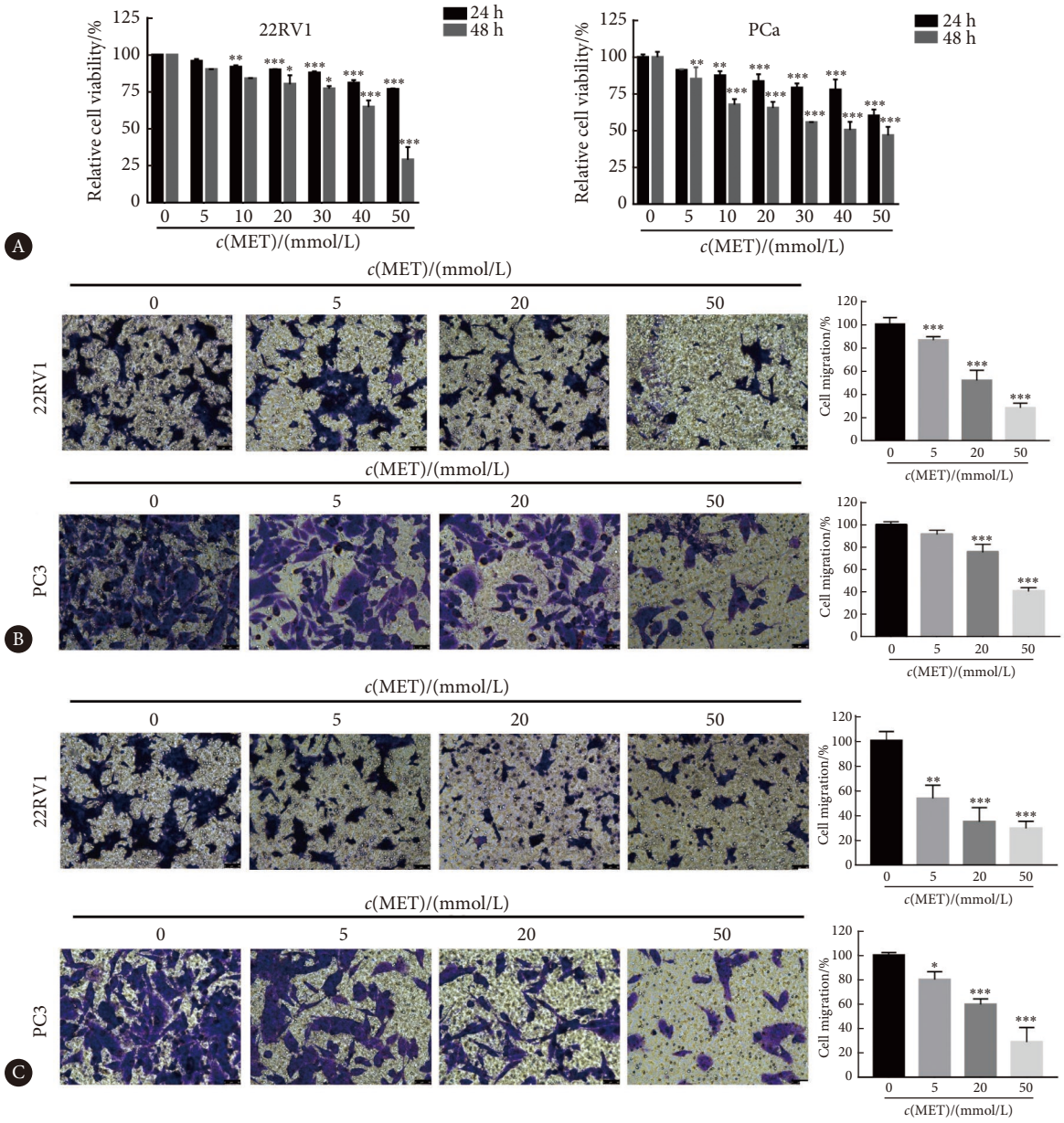


图 1　二甲双胍抑制PCa细胞系的增殖、迁移和侵袭

Fig 1　Metformin inhibits the proliferation, migration, and invasion of PCa cell lines

MET: metformin. A, Cell viability measured by CCK-8 assay after 24 h and 48 h treatment with indicated metformin concentrations. B, Cell migration assessed by Transwell assay. C, Cell invasion assessed by Matrigel-coated Transwell assay. Representative Transwell images were captured at original magnification × 200. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, vs. 0 mmol/L MET (control). Data are presented as the $\bar{x} \pm s$ from three independent experiments ($n = 3$); five replicate wells or five randomly selected fields were analyzed per group.

胞凋亡, 在过表达HuR的基础上用二甲双胍处理, 细胞凋亡比例增加, 敲低HuR可促进细胞凋亡。Western blot结果显示过表达HuR可促进Bcl-2表达并抑制Bax, 但当二甲双胍与其联用时则得到相反的结果。敲低HuR时Bcl-2表达减少、Bax增多。这一结果与流式细胞术趋势一致(图5C、5D, P<0.001)。

2.6　二甲双胍通过靶向HuR抑制PCa细胞的AKT/mTOR信号通路

为了从海量基因中精准识别二甲双胍调控PCa的关键下游效应分子, 我们将生物信息学分析作为靶点初筛工具。首先, 从数据库中获取14 201个PCa相关基因和402个二甲双胍靶点蛋白, 筛选出186个交集基因用于后续PPI分析(附图1A)。为了进一步缩小核心靶点范围, 我们构建了PPI网络并利用CytoHubba插件进行拓扑分析(附图1B)。结果显示, 在MNC评分最高的前15个枢纽基因中, AKT和mTOR均位列核心位置(附图1C)。此外, 通过对186个基因的KEGG富集分析, 从Rich Factor排名前20的通路中筛选出8个相关通路, 也证实了AKT/mTOR通路的

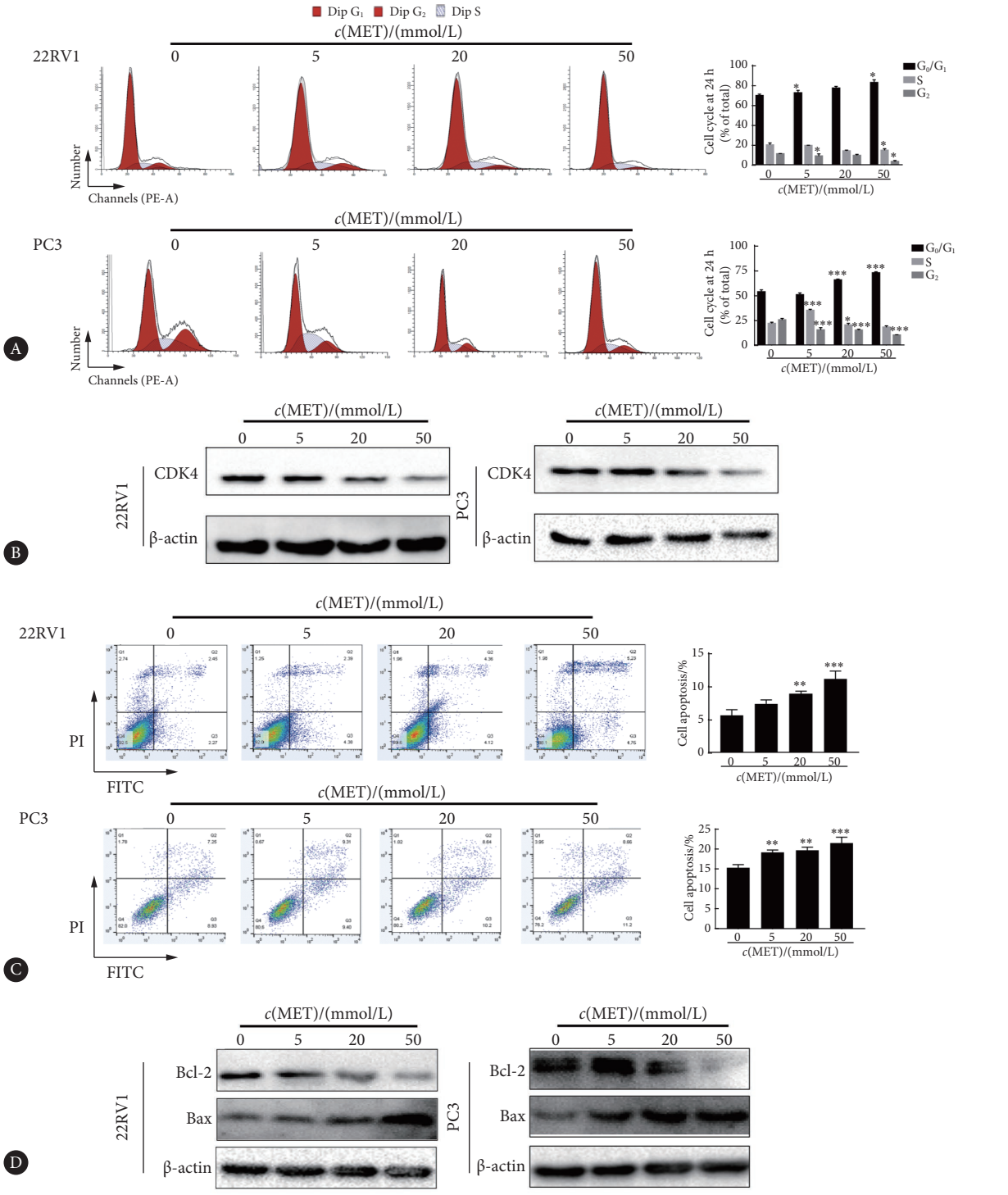


图 2 二甲双胍以剂量依赖性方式诱导G_0/G_1停滞并促进细胞凋亡

Fig 2 Metformin induces G_0/G_1 arrest in a dose-dependent manner and promotes cell apoptosis

MET: metformin. A, Cell cycle distribution analyzed by flow cytometry. B, Western blot analysis of CDK4 expression. C, Apoptosis rates detected by Annexin Ⅴ-FITC/PI staining. D, Western blot analysis of Bcl-2 and Bax expression. Data are presented as the $\bar{x} \pm s$ from three independent experiments (n = 3). Statistic analyses include one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, vs. 0 mmol/L MET (control).

重要性(附图1D)。基于这些线索,通过Western blot实验对预测结果进行了生物学验证。附图见网络资源附件。

通过检测磷酸化AKT(p-AKT)(Ser473)和磷酸化mTOR(p-mTOR)(Ser2448)蛋白水平以评估信号通路活化情况,如图6所示,二甲双胍可以显著降低AKT和mTOR蛋白的磷酸化且呈现出浓度依赖性。与二甲双胍处理结果相似,敲低HuR后抑制AKT和mTOR的磷酸化,而*pHuR*则促进AKT和mTOR的磷酸化。与*pHuR*相比,加

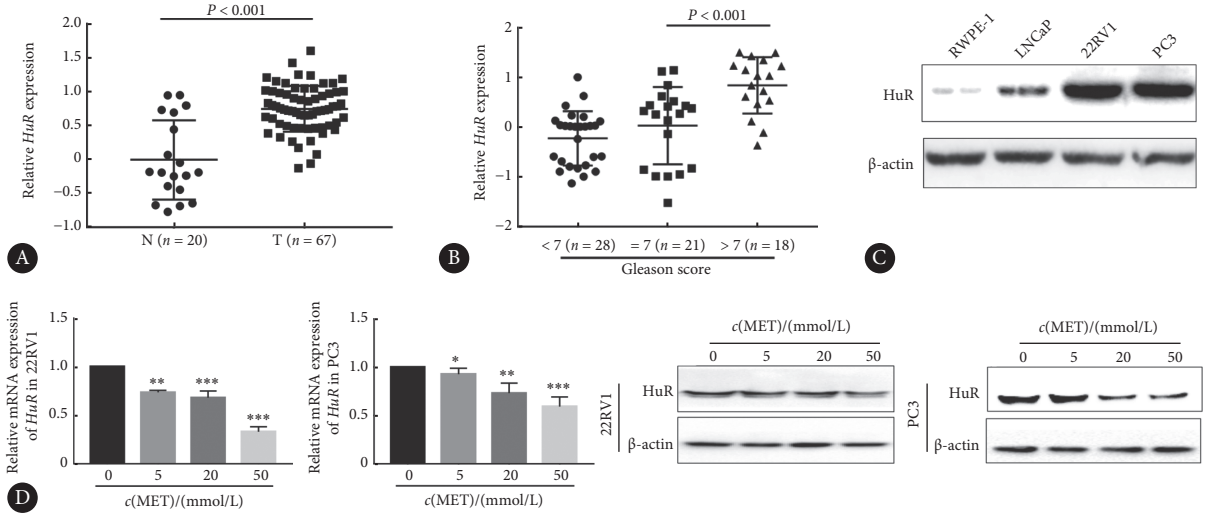


图 3 HuR具有表达差异，且为二甲双胍作用的潜在靶点

Fig 3 HuR is differentially expressed and serves as a potential target of metformin.

MET: metformin. A, *HuR* mRNA levels in PCa (T) vs. normal tissue (N). B, Correlation between *HuR* expression and Gleason scores. C, HuR protein levels in PCa cell lines. D, Dose-dependent reduction of HuR mRNA and protein by metformin (qPCR/Western blot). $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, vs. 0 mmol/L MET (control). Each qPCR reaction was performed in quadruplicate and qPCR data are presented as the $\bar{x} \pm s$ from three independent experiments ($n = 3$).

用了二甲双胍处理后的细胞中AKT和mTOR的磷酸化水平降低，说明二甲双胍可以通过靶向HuR抑制AKT/mTOR信号通路的激活。

2.7　分子对接分析

利用SwissDock在线模拟了二甲双胍与HuR之间可能的相互作用模式，网络资源附件附表2列出了排名前10的完整适应度评分和预估ΔG值。选择ΔG值最小的对接模式进行可视化(图7)，在该对接模式中完整适应度评分—2 176.4 kcal/mol，预估ΔG值为—6.198 15 kcal/mol，可能结合的氨基酸残基包括HSD59、GLU257、LYS274、VAL275和ARG277。

3　讨论

越来越多的流行病学与队列研究表明，在二甲双胍治疗的糖尿病患者群体中，其患癌概率显著降低，提示二甲双胍可能具有抗肿瘤作用[19-21]。在PCa中，二甲双胍被报道可降低PCa的发病率[22-23]，延缓去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)的进展[24]，并改善患者的总体生存[25-27]。以上结果提示，二甲双胍可能是一种具有临床应用前景的PCa治疗药物。为进一步验证这一假设，本课题在体外研究了二甲双胍对PCa细胞的作用。实验结果表明，二甲双胍可在不同程度上抑制两种PCa细胞的增殖、侵袭和迁移，并诱导G_0/G_1期停滞和细胞凋亡。同时，二甲双胍下调了细胞周期相关蛋白CDK4的表达，并分别上调和下调了凋亡蛋白Bax和Bcl-2的表达。综上所述，二甲双胍对PCa细胞具有抑制作用。基于这些结果，本研究进一步探讨了二甲双胍抑制肿瘤细胞活性的潜在分子机制。

在深入探索二甲双胍作用靶点前，本研究梳理了相关已发表文献，发现*HuR*基因在包括PCa在内的大多数肿瘤中均呈高表达状态[28]。因此，本研究利用Oncomine数据库分析HuR在PCa中的表达情况，结论提示，HuR在PCa组织中的表达水平显著升高。此外，来自Proteinatlas的数据亦表明，HuR在临床PCa病理组织样本中呈上调趋势。

尽管分子对接分析了多个二甲双胍与HuR蛋白之间的结合位点，但我们需要指出的是，这种计算机模拟结果仅代表一种结构上的可能性。因此，本研究提取经二甲双胍处理后PCa细胞的RNA、蛋白质样品进行检测。结果显示，二甲双胍能够以剂量依赖性方式下调HuR蛋白的表达，同时也显著下调了其mRNA水平。这一结果强烈提示二甲双胍对HuR的负向调控可能发生在转录水平或涉及mRNA稳定性的改变，而不仅仅局限于蛋白的直接相互作用。既往研究也表明，二甲双胍可以通过AMPK依赖或非依赖的途径广泛调节多种RNA结合蛋白的表达。鉴于本研究的核心旨在确立“二甲双胍-HuR-AKT/mTOR”这一功能轴线，二甲双胍调控HuR的具体上游分子机制将是我们未来研究的重点。

随后，在体外实验中分别对HuR进行过表达与敲低处理。结果表明，HuR敲低显著降低了22RV1和PC3细胞的增殖、迁移及侵袭能力，并导致细胞G_0/G_1期阻滞及凋亡比例增加。相反，HuR过表达则产生了相反的生物学

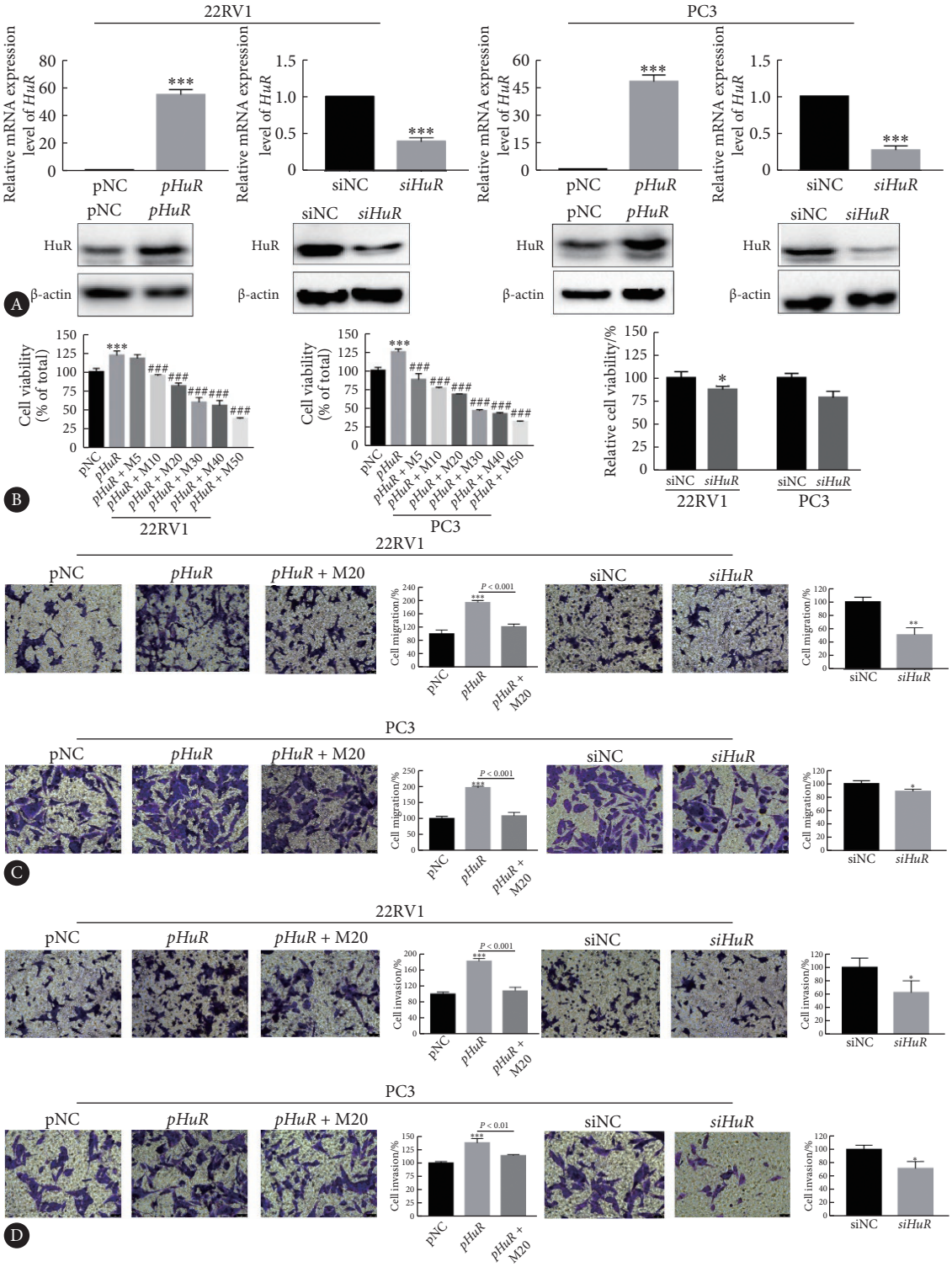


图 4 二甲双胍通过靶向HuR抑制细胞增殖、迁移和侵袭，而敲低HuR具有抑制作用

Fig 4 Metformin inhibites cell proliferation, migration, and invasion by targeting HuR, whereas HuR knockdown has an inhibitory effect

A, Validation of HuR overexpression (*pHuR*) and knockdown (*siHuR*) efficiency (qPCR/Western blot). B, Cell viability (Rescue assay). C, Migration analysis. D, Invasion analysis. Representative Transwell images were captured at original magnification × 200. M0-M50 indicate metformin at 0-50 mmol/L, respectively. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, vs. control (pNC or siNC). $^{\#\#\#}P < 0.001$, vs. pHuR. Data are presented as the $\bar{x} \pm s$ from three independent experiments ($n = 3$); five replicate wells were analyzed per group.

效应，但当肿瘤细胞接受HuR过表达质粒和二甲双胍联合处理时却被明显逆转，提示HuR是二甲双胍抑制肿瘤发生发展的关键调节因子，二甲双胍的抗肿瘤作用是部分通过HuR所介导的。

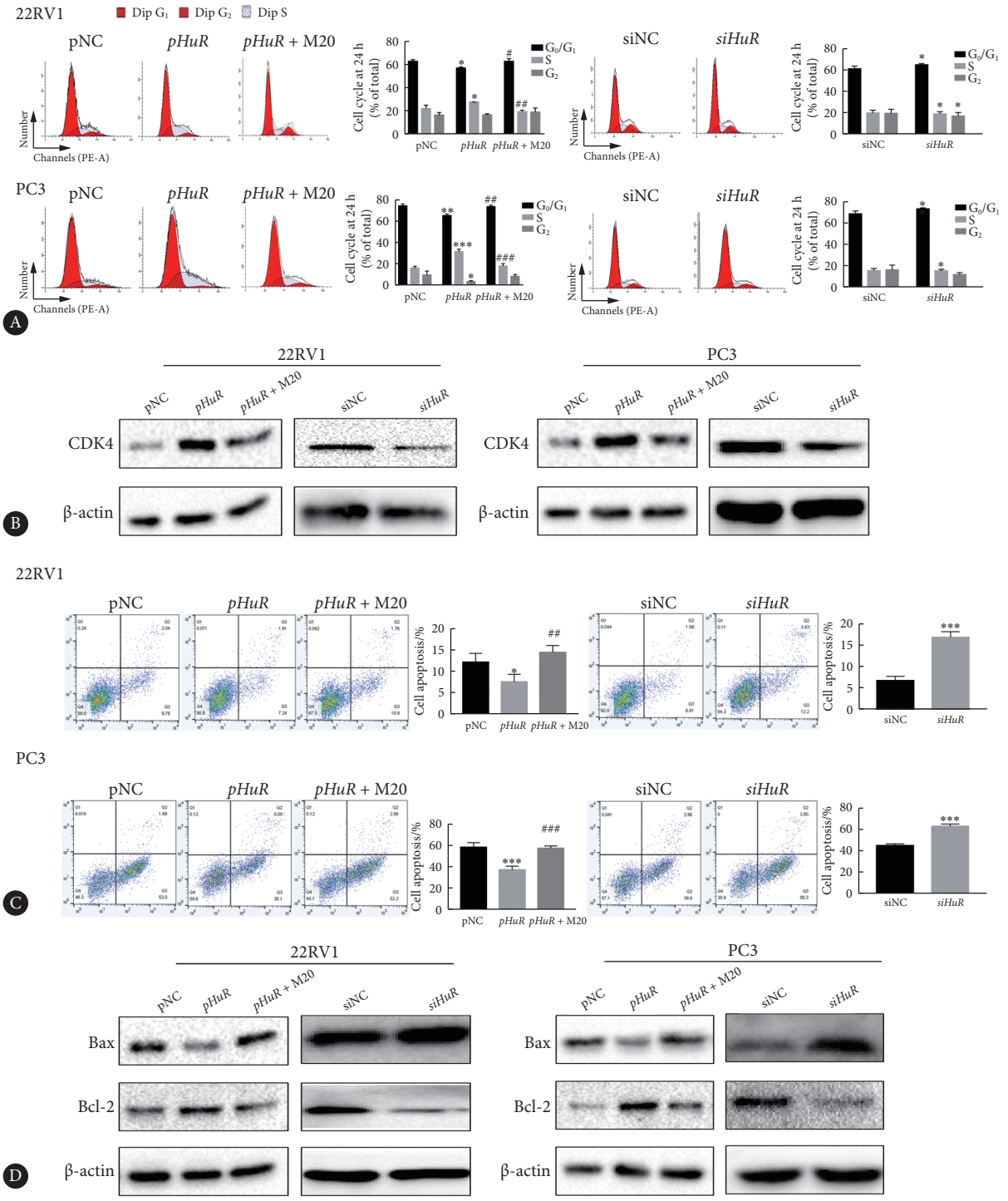


图 5　二甲双胍逆转HuR过表达的促细胞周期和抗凋亡作用

Fig 5　Metformin reverses the pro-cycle and anti-apoptotic effects of HuR overexpression

A, Flow cytometry analysis of cell cycle distribution in rescue experiments. B, Western blot of CDK4 levels. C, Flow cytometry analysis of apoptosis. D, Western blot of Bax and Bcl-2 levels. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, vs. control (pNC or siNC); $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$, $^{\#\#\#}P < 0.001$, vs. *pHuR* group. Data are presented as the $\bar{x} \pm s$ from three independent experiments ($n = 3$).

基于已有的关于HuR与AKT/mTOR相关性的研究结果, 本研究推测二甲双胍可能通过HuR抑制AKT/mTOR信号通路的激活。体外实验证实, 激活AKT和mTOR可促进PCa细胞增殖、迁移和侵袭, 而抑制该通路则能有效抑制细胞活性。本研究分别对22RV1和PC3细胞进行不同处理: 包括不同浓度的二甲双胍处理、HuR过表达、HuR过表达联合二甲双胍处理以及HuR敲低。Western blot结果显示, 二甲双胍和敲低HuR均能有效抑制AKT和

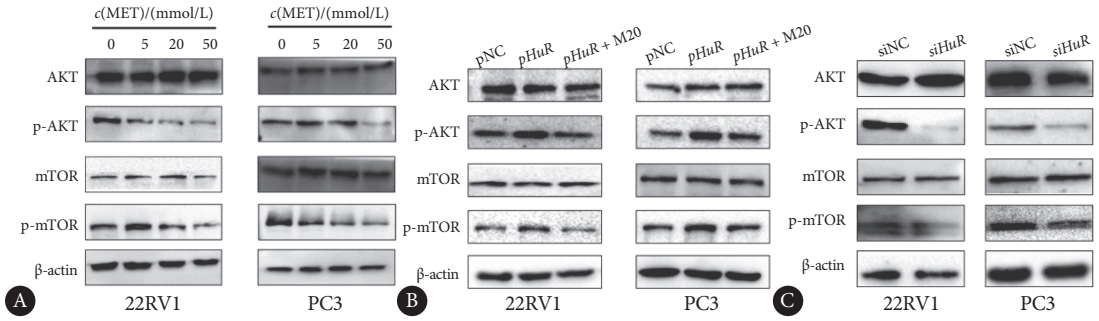


图 6 二甲双胍通过靶向HuR对AKT/mTOR信号通路的作用

Fig 6 The effect of metformin on the AKT/mTOR signaling pathway through targeting HuR

MET: metformin. A, Western blot showing dose-dependent inhibition of p-AKT and p-mTOR by metformin. B, Rescue experiment shows that HuR overexpression restores p-AKT/p-mTOR levels reduced by metformin. C, Effect of HuR knockdown on the pathway.

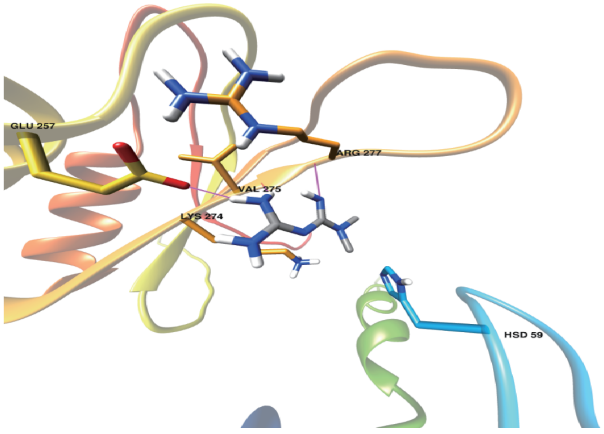


图 7 二甲双胍在HuR中的对接预测最佳结合模式

Fig 7 The top 1 binding mode of metformin on HuR through docking

mTOR的磷酸化水平; 相反, HuR过表达可促进AKT和mTOR的激活, 而在HuR过表达的同时给予二甲双胍处理, 可明显逆转此趋势。这一“挽救实验”有力地证实了AKT/mTOR信号通路的抑制并非二甲双胍细胞毒性带来的非特异性副产物。相反, 由于外源性补回HuR能够在药物存在的情况下恢复AKT和mTOR的磷酸化水平, 这证明了该信号通路的活性特异性地受到HuR蛋白水平的直接调控, 从而确立了HuR作为二甲双胍调控AKT/mTOR通路的关键上游节点的地位。以上结果表明, 二甲双胍通过抑制HuR来调节AKT/mTOR通路, 从而抑制PCa细胞增殖、迁移和侵袭。

值得注意的是, 本研究揭示的HuR/AKT/mTOR抑制轴可能在某种程度上具有细胞类型特异性。鉴于HuR在CRPC细胞中呈特异性高表达, 我们推测该机制主要在HuR驱动的晚期肿瘤细胞中占主导地位。而在HuR表达较低的早期或激素敏感性前列腺癌细胞中, 二甲双胍可能通过其他互补机制发挥作用。这种机制上的差异性进一步强调了在临床应用中根据肿瘤分型和HuR表达水平进行患者分层的潜在价值。此外, 我们需要指出的是, 本研究在体外实验中使用的二甲双胍浓度显著高于临床服用二甲双胍患者通常为微摩尔级别的血浆峰值浓度。这主要归因于体外培养的肿瘤细胞缺乏类似于体内的有机阳离子转运体协助摄取机制, 因此往往需要较高的胞外浓度梯度以驱动药物进入细胞发挥作用。尽管该浓度范围在前列腺癌细胞实验中被广泛采用, 但本研究结果在向临床转化时, 仍需谨慎考量药代动力学因素及体内生物利用度的限制。

综上所述, 二甲双胍通过抑制HuR的表达, 从而调控AKT/mTOR信号通路, 抑制PCa细胞的活性。这一发现为临床上二甲双胍在T2DM患者中降低PCa风险并延缓其进展提供了机制解释和理论依据。

* * *

作者贡献声明 张正坤负责数据审编和审读与编辑写作, 全治有和戴盼盼负责审读与编辑写作, 许可仪和殷照茹负责调查研究和验证, 陈丹负责论文构思、调查研究、验证和初稿写作, 耿瑞蔓和纪旭旭负责正式分析和可视化, 王定学和陈述负责调查研究和验证, 陈利弘和刘戟负责经费获取和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊, 且对将要发表的版本进行最终定稿, 并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution Zhang Zhengkun is responsible for data curation and writing--review and editing. Quan Zhiyou and Dai Panpan are responsible for writing--review and editing. Xu Keyi and Yin Zhaoru are responsible for investigation and validation. Chen Dan is responsible for conceptualization, investigation, validation, and writing--original draft. Geng Ruiman and Ji Xuxu are responsible for formal analysis and visualization. Wang Dingxue and Chen Shu are responsible for investigation and validation. Chen Lihong and Liu Ji are responsible for funding acquisition and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

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. DOI: 10.3322/caac.21834.

[2] Han B, Zheng R, Zeng H, *et al*. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. J Natl Cancer Cent, 2024, 4(1): 47. DOI: 10.1016/j.jncc.2024.01.006.

[3] Dutta S, Shah R B, Singhal S, *et al*. Metformin: a review of potential mechanism and therapeutic utility beyond diabetes[J]. Drug Des Devel Ther, 2023, 17: 1907-1932. DOI: 10.2147/DDDT.S409373.

[4] 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. DOI: 10.1136/bmj.38415.708634.F7.

[5] Tsai K W, Liao J B, Tseng H W. Metformin regulates the proliferation and motility of melanoma cells by modulating the LINC00094/miR-1270 axis[J/OL]. Cancer Cell Int, 2024, 24(1): 384. https://doi.org/10.1186/s12935-024-03545-5.

[6] Yang J, Zhou Y, Xie S, *et al*. Metformin induces ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 206. https://doi.org/10.1186/s13046-021-02012-7.

[7] Gholami M, Klashami Z N, Ebrahimi P, *et al*. Metformin and long non-coding RNAs in breast cancer[J/OL]. J Transl Med, 2023, 21(1): 155. https://doi.org/10.1186/s12967-023-03909-x.

[8] García-Sáenz M, Lobaton-Ginsberg M, Ferreira-Hermosillo A. Metformin in differentiated thyroid cancer: molecular pathways and its clinical implications[J/OL]. Biomolecules, 2022, 12(4): 574. https://doi.org/10.3390/biom12040574.

[9] Ahn H K, Lee Y H, Koo K C. Current status and application of metformin for prostate cancer: a comprehensive review[J/OL]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8540. https://doi.org/10.3390/ijms21228540.

[10] Kincius M, Patasius A, Linkeviciute-Ulinskiene D, *et al*. Reduced risk of prostate cancer in a cohort of Lithuanian diabetes mellitus patients[J]. Aging Male, 2020, 23(5): 1333. DOI: 10.1080/13685538.2020.1766013.

[11] Salt I P, Nunes J R C, Fullerton M D. Metformin again? Atheroprotection mediated by macrophage AMPK and ATF1[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(5): 1233. DOI: 10.1093/cvr/cvab065.

[12] Roy A, Sahoo J, Kamalanathan S, *et al*. Diabetes and pancreatic cancer: exploring the two-way traffic[J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(30): 4939. DOI: 10.3748/wjg.v27.i30.4939.

[13] Li L, Miao H, Chang Y, *et al*. Multidimensional crosstalk between RNA-binding proteins and noncoding RNAs in cancer biology[J]. Semin Cancer Biol, 2021, 75: 84. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.03.007.

[14] Gebauer F, Schwarzl T, Valcarcel J, *et al*. RNA-binding proteins in human genetic disease[J]. Nat Rev Genet, 2021, 22(3): 185. DOI: 10.1038/s41576-020-00302-y.

[15] Clark M E, Farinha A, Morrison A R, *et al*. Structural, biological, and biomedical implications of mRNA interactions with the master regulator HuR[J/OL]. NAR Mol Med, 2025, 2(1): ugaf002. https://doi.org/10.1093/narmme/ugaf002.

[16] Finan J M, Sutton T L, Dixon D A, *et al*. Targeting the RNA-binding protein HuR in cancer[J]. Cancer Res, 2023, 83(21): 3507. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-0972.

[17] Chen J, Wu Y, Luo X, *et al*. Circular RNA circRHOBTB3 represses metastasis by regulating the HuR-mediated mRNA stability of PTBP1 in colorectal cancer[J]. Theranostics, 2021, 11(15): 7507. DOI: 10.7150/thno.59546.

[18] Wei L, Kim S H, Armaly A M, *et al*. RNA-binding protein HuR inhibition induces multiple programmed cell death in breast and prostate cancer[J/OL]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 580. https://doi.org/10.1186/s12964-024-01916-z.

[19] Saraei P, Asadi I, Kakar M A, *et al*. The beneficial effects of metformin on cancer prevention and therapy: a comprehensive review of recent advances[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 3295. DOI: 10.2147/CMAR.S200059.

[20] 梅傲宇, 毛江浩, 马莉, 等. 二甲双胍治疗糖尿病合并胰腺癌的研究进展[J]. 药物评价研究, 2025, 48(11): 3409. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.11.032.
Mei A Y, Mao J H, Ma L, *et al*. Research progress on metformin in the treatment of diabetes mellitus complicated with pancreatic cancer[J]. Drug Eval Res, 2025, 48(11): 3409. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.11.032.

[21] Kim Y S, Choi E A, Lee J W, *et al*. Metformin use reduced the overall risk of cancer in diabetic patients: a study based on the Korean NHIS-HEALS cohort[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2020, 30(10): 1714. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.05.010.

[22] 白培德, 张文炤, 谢顺强, 等. 二甲双胍通过调节PKM2调控肿瘤细胞增殖与凋亡影响前列腺癌浸润和转移的机制研究[J]. 临床泌尿外科杂志, 2022, 37(11): 846. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1420.2022.11.009.
Bai P D, Zhang W Z, Xie S Q, *et al*. Mechanism of metformin regulating tumor cell proliferation and apoptosis through PKM2 to affect prostate cancer invasion and metastasis[J]. J Clin Urol, 2022, 37(11): 846. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1420.2022.11.009.

[23] 罗恒丰, 杨旭凯, 陈雅洁, 等. 二甲双胍在前列腺癌治疗中的研究进展[J]. 实用临床医药杂志, 2023, 27(20): 142. DOI: 10.7619/jcmp.20231475.
Luo H F, Yang X K, Chen Y J, *et al*. Research progress on metformin in the treatment of prostate cancer[J]. J Clin Med Pract, 2023, 27(20): 142. DOI: 10.7619/jcmp.20231475.

[24] 谭信韬. 二甲双胍在前列腺癌中的回顾性研究[D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学, 2022. DOI:10.27001/d.cnki.gtjyu.2022.000065.
Tan X T. A retrospective study of metformin in prostate cancer[D]. Chongqing: Army Medical University, 2022. DOI: 10.27001/d.cnki.gtjyu.2022.000065.

[25] Lopez D S, Polychronopoulou E, Abdelgadir O, *et al*. Effects of metformin on cancer survival among men diagnosed with advanced prostate cancer treated with androgen-deprivation therapy: Emulating a target trial[J/OL]. Cancers (Basel), 2025, 17(21): 3579. DOI: 10.3390/cancers17213579.

[26] Gebrael G, Chehade C H, Agarwal N. Metformin in prostate cancer[J]. Lancet Oncol, 2025, 26(8): 982. DOI: 10.1016/S1470-2045(25)00291-8.

[27] Liu Y, Zhang Q, Huang X. Effect of metformin on incidence, recurrence, and mortality in prostate cancer patients: Integrating evidence from real-world studies[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2025, 28(1): 210. DOI: 10.1038/s41391-024-00871-7.

[28] Majumder M, Chakraborty P, Mohan S, *et al*. HuR as a molecular target for cancer therapeutics and immune-related disorders[J/OL]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 188: 114442. https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114442.

（2025 – 11 – 25收稿, 2026 – 06 – 03修回）

编辑　吕　熙

开放获取　本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议（CC BY-NC 4.0），详细信息请访问https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/。

OPEN ACCESS　This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

© 2026《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*