

二甲双胍对体外子宫内膜癌细胞 COX-2、VEGF 和 PTEN 表达的影响

贺天虎, 邓娟, 雷慧, 曹云桂

上海市嘉定区妇幼保健院妇科, 上海 201821

【摘要】 目的 探讨二甲双胍在体外对子宫内膜癌细胞环氧合酶-2 (COX-2)、血管内皮生长因子(VEGF)和张力蛋白同源第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)蛋白表达的影响。方法 按照二甲双胍干预药物浓度的不同, 将细胞实验分为实验组(0.01 mmol/L 组, 0.1 mmol/L 组, 1 mmol/L 组, 10 mmol/L 组)和对照组(0 mmol/L 组), 分别干预 4 种子宫内膜癌 Ishikawa、RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞相同时间后, 采用 ELISA 法检测内膜癌细胞中 COX-2 和 VEGF 表达的变化, Western blotting 法检测内膜癌细胞中 PTEN 蛋白的表达情况。结果 Ishikawa 和 RL-952 细胞中 4 个实验组相对于对照组 COX-2 和 VEGF 的表达均随着二甲双胍浓度的增加呈明显下降趋势, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); HEC-1A 和 KLE 细胞中 4 个实验组相对于对照组 COX-2 的表达均随着二甲双胍浓度的增加呈下降趋势, 但是仅有 HEC-1A 细胞中 10 mmol/L 组差异有统计学意义($P < 0.05$), 其余实验组差异均无统计学意义($P > 0.05$); HEC-1A 和 KLE 细胞中 4 个实验组相对于对照组 VEGF 的表达均随着二甲双胍浓度的增加呈明显下降趋势, 差异有统计学意义($P < 0.05$); Western blotting 法检测显示二甲双胍能够促进子宫内膜癌 Ishikawa 细胞中 PTEN 蛋白的表达, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而对 RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞中 PTEN 蛋白的表达无影响($P > 0.05$)。结论 二甲双胍可能通过抑制子宫内膜癌细胞中 COX-2 与 VEGF 的表达来实现其部分的抗肿瘤作用。

【关键词】 子宫内膜癌; 二甲双胍; 环氧合酶-2; 血管内皮生长因子; 张力蛋白同源第 10 号染色体缺失的磷酸酶

【中图分类号】 R737.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2023)02-0171-05

Effects of metformin on expression of cyclooxygenase-2, vascular endothelial growth factor, and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten in endometrial carcinoma cells *in vitro*. HE Tian-hu, DENG Juan, LEI Hui, CAO Yun-gui. Department of Gynaecology, Shanghai Jiading District Maternal and Child Health Hospital, Shanghai 201821, CHINA

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of metformin on the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2), vascular endothelial growth factor (VEGF) and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) in human endometrial carcinoma cells *in vitro*. **Methods** According to the different concentrations of metformin intervention drugs, the cell experiments were divided into experimental group (0.01 mmol/L group, 0.1 mmol/L group, 1 mmol/L group, 10 mmol/L group) and control group (0 mmol/L group). After the intervention of Ishikawa, RL-952, HEC-1A, and KLE cells of four kinds of human endometrial carcinoma for the same time, and the expression of COX-2 and VEGF in endometrial cancer cells was detected by ELISA. Expression of PTEN protein in endometrial cancer cells was detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the expression levels of COX-2 and VEGF in the four experimental groups in the Ishikawa and RL-952 cell groups decreased significantly with the increase of metformin concentration, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expression of COX-2 in the 4 experimental groups in the HEC-1A and the KLE cell group decreased with the increase of metformin concentration, but only the HEC-1A cell group had a statistically significant difference in the 10 mmol/L group ($P < 0.05$), and there was no significant difference in other groups ($P > 0.05$). In the HEC-1A and KLE cell, the expression of VEGF in the four experimental groups (compared with the control group) decreased significantly with the increase of metformin concentration, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Western blotting showed that metformin could promote the expression of PTEN protein in endometrial cancer Ishikawa cells, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$), but had no effect on the expression of PTEN in RL-952, HEC-1A and KLE cells ($P > 0.05$). **Conclusion** Metformin partially achieves anti-tumor effects by inhibiting the expression of COX-2 and VEGF in endometrial cancer cells.

【Key words】 Endometrial carcinoma; Metformin; Cyclooxygenase-2 (COX-2); Vascular endothelial growth factor (VEGF); Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN)

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一,近年来其发病率呈上升趋势,而且其在发达地区的发病率已经和宫颈癌趋平^[1]。大量的流行病学研究提示二甲双胍能够降低 2

基金项目:上海市嘉定区卫健委资助项目(编号:2019-QN-09)。

第一作者:贺天虎(1985—),男,硕士研究生,主治医师,主要研究方向为妇科肿瘤,E-mail:hetianhu0201@126.com。

通讯作者:曹云桂(1966—),女,主任医师,主要研究方向为妇科肿瘤和盆底功能障碍性疾病,E-mail:cyyg@126.com。

型糖尿病患者发生癌症风险和癌症相关的死亡率^[2-3], 随后许多的基础实验研究^[4-5]进一步证实二甲双胍对人体很多组织来源的肿瘤细胞增殖和迁徙具有显著的抑制作用。在妇科肿瘤方面, 也有多项基础研究显示二甲双胍能够抑制子宫内膜癌细胞的增殖, 并降低其侵袭转移的能力^[6-7], 认为其有望成为一种新的抗肿瘤辅助药物, 作用机制可能与其抑制哺乳动物雷帕霉素靶点(mTOR)通路的活性有关, 但是其更详细的抗肿瘤分子机制有待进一步探究。有研究提示二甲双胍辅助治疗有助于将子宫内膜非典型增生逆转为正常子宫内膜组织, 并减少与内膜癌发生发展有关的细胞增殖生物标志物, 以及可能提高子宫内膜癌的总体生存率^[8]。近些年研究发现, 环氧合酶-2 (cyclooxygenase 2, COX-2) 及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与子宫内膜癌的发生发展、肿瘤新生血管的形成以及肿瘤的转移有密切关系, 并且 COX-2 的抑制剂有可能成为肿瘤治疗新的靶点^[9]。此外, 研究报道在子宫内膜癌的患者中经常出现张力蛋白同源第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)等基因的改变, 但是 PTEN 基因突变的意义仍然不是非常清楚^[10], 有待进一步的研究。

为了进一步探究二甲双胍的抗肿瘤作用机制, 本研究拟从细胞实验入手, 通过检测不同浓度的二甲双胍对 4 种子宫内膜癌细胞 COX-2、VEGF 及 PTEN 表达的影响, 深入探讨其可能的抗肿瘤作用机制, 并为二甲双胍能够成为一种新的抗肿瘤辅助药物提供相应的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 人子宫内膜癌 Ishikawa 细胞系、RL95-2 细胞系和 HEC-1A 细胞系、KLE 细胞系分别购自中国江苏凯基生物技术股份有限公司、中国南京科佰生物科技有限公司和中科院上海生命科学研究院细胞资源中心。二甲双胍购自美国西格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich)公司, 人 COX2-ELISA 检测试剂盒、人 VEGF-ELISA 检测试剂盒分别购自英国 Abcam 生物技术有限公司(AB267646)和中国江苏凯基生物技术股份有限公司(KGEHC108-1), PTEN Rabbit antibody 购自英国 Abcam 生物技术有限公司(AB267787), 不完全 RPMI-1640 培养基、D/F12 培养基和 McCoy's 培养基及 Western blotting 其余试剂均购自中国江苏凯基生物技术股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和分组药物干预 4 种人子宫内膜癌细胞系分别按照要求常规培养于特定培养液中, 培养箱设定条件: 恒温 37℃、CO₂ 浓度 5%、饱和湿度。按照二甲双胍干预药物浓度的不同, 将细胞实验分为实验组(0.01 mmol/L 组, 0.1 mmol/L 组, 1 mmol/L 组, 10 mmol/L 组)和对照组(0 mmol/L 组), 其中对照组以等体积的磷酸缓冲盐溶液(PBS)代替二甲双胍对细胞进行干预。

1.2.2 EIL 法检测 COX-2 和 VEGF 的表达 收集处于对数生长期的 4 种人子宫内膜癌细胞后按照 3×10^5 /孔的标准接种于细胞培养板, 每组设置 3 个复孔。培养一定时间后用不同浓度的二甲双胍干预实验细胞, 24 h 后收集相应孔的细胞培养上清液待检测。酶标包被板分别按照实验设计孔加样后置 37℃ 温育 90 min。揭掉封板膜, 洗板后依次加入提前 1 h 内配制的生物素标记抗体稀释液, 封板后置 37℃ 温育 60 min。洗板, 加辣根过氧化物酶(HRP)标记亲和素工作液, 置于 37℃ 温育 30 min。洗板, 加底物显色液显色。肉眼可见标准品变蓝色后加入终止液。15 min 内用酶标仪调零后在 450 nm 波长处依次测量各孔的吸光度(OD 值)并以此计算蛋白浓度。

1.2.3 Western Blotting 印迹法检测 PTEN 的表达 收集处于对数生长期的 4 种人子宫内膜癌细胞后按照 3×10^5 /孔的标准接种于细胞培养板, 每组设置 3 个复孔。培养一定时间后用不同浓度的二甲双胍干预实验细胞, 24 h 后收集贴壁培养细胞并提取细胞总蛋白待检测。应用 BCA 蛋白测定试剂盒计算蛋白含量并制作标准曲线。按照十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶配置试剂盒的要求配置凝胶后依次加样并电泳分离蛋白。按照“三明治”结构进行转膜, PVDF 膜封闭后予抗体孵育和免疫反应。ECL 试剂按比例混匀后滴加至 PVDF 膜表面后室温静置, 保鲜膜包裹 PVDF 膜, 用化学发光成像分析仪曝光, 然后进行目的条带的灰度值分析。

1.3 统计学方法 应用 SPSS23.0 统计软件进行数据分析。所有计量数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组均数比较用单因素方差分析, 组内两两比较采用配对 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二甲双胍对子宫内膜癌细胞 COX-2 和 VEGF 表达的影响 不同浓度的二甲双胍干预子宫内膜癌 Ishikawa、RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞 24 h 后, ELISA 法检测发现子宫内膜癌 Ishikawa 和 RL-952 细胞组中 4 个实验组相对于对照组 COX-2 和 VEGF 的表达随着二甲双胍浓度的增加均呈下降趋势, 差异有统计学意义($P < 0.05$); HEC-1A 和 KLE 细胞组中 4 个实验组相对于对照组 COX-2 的表达随着二甲双胍浓度的增加呈下降趋势, 但是仅有 HEC-1A 细胞组中 10 mmol/L 组差异有统计学意义($P < 0.05$), 其余实验组差异无统计学意义($P > 0.05$); HEC-1A 和 KLE 细胞组中 4 个实验组相对于对照组 VEGF 的表达随着二甲双胍浓度的增加均呈明显下降趋势, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1 和表 2。

2.2 二甲双胍对子宫内膜癌细胞 PTEN 蛋白表达的影响 不同浓度的二甲双胍干预子宫内膜癌 Ishikawa、RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞 24 h 后, Western Blotting 检测发现二甲双胍可以促进 Ishikawa 细胞

中 PTEN 蛋白的表达,而且促进作用呈剂量依赖性,差异有统计学意义($P<0.05$),而其对 RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞中 PTEN 蛋白的表达无显著影响,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1。

表 1 二甲双胍对子宫内 膜癌 细胞 COX-2 表达 的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Effect of metformin on COX-2 expression in human endometrial cancer cells ($\bar{x}\pm s$)

细胞系种类	二甲双胍浓度分组 (mmol/L)	COX-2 (ng/mL)	F/t 值	P 值
Ishikawa 细胞	对照组	9.13±1.03	7.841	0.004
	0.01	7.61±0.99	1.832	0.141
	0.1	6.91±0.37 ^a	3.498	0.025
	1	5.84±0.89 ^a	4.182	0.014
	10	5.61±0.97 ^a	4.302	0.013
RL95-2 细胞	对照组	7.76±0.41	11.119	0.001
	0.01	7.48±0.58	0.638	0.532
	0.1	6.52±0.18 ^a	4.768	0.009
	1	6.53±0.37 ^a	3.883	0.018
	10	5.66±0.53 ^a	5.408	0.006
HEC-1A 细胞	对照组	3.92±0.27	3.025	0.071
	0.01	3.62±0.53	0.878	0.430
	0.1	3.50±0.47	1.356	0.246
	1	3.12±0.48	2.542	0.064
	10	2.88±0.22 ^a	5.187	0.007
KLE 细胞	对照组	5.58±1.26	0.805	0.549
	0.01	4.99±0.14	0.802	0.468
	0.1	4.86±0.50	0.921	0.409
	1	4.72±1.10	0.889	0.424
	10	4.46±0.38	1.467	0.216

注:不同浓度二甲双胍组与对照组比较,^a $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, ^a $P<0.05$.

表 2 二甲双胍对子宫内 膜癌 细胞 VEGF 表达 的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of metformin on VEGF expression in human endometrial cancer cells ($\bar{x}\pm s$)

细胞系种类	二甲双胍浓度分组 (mmol/L)	VEGF (ng/mL)	F/t 值	P 值
Ishikawa 细胞	对照组	59.84±1.26	298.406	0.001
	0.01	54.06±0.73 ^a	6.864	0.002
	0.1	50.23±0.64 ^a	11.760	0.001
	1	44.87±0.29 ^a	20.032	0.001
	10	40.96±0.40 ^a	24.723	0.001
RL95-2 细胞	对照组	36.80±1.25	36.615	0.001
	0.01	33.21±0.83 ^a	4.140	0.014
	0.1	31.04±1.22 ^a	5.699	0.005
	1	29.09±0.24 ^a	10.493	0.007
	10	27.66±1.22 ^a	9.056	0.001
HEC-1A 细胞	对照组	69.19±0.85	58.015	0.001
	0.01	66.34±0.29 ^a	5.468	0.005
	0.1	62.79±1.76 ^a	5.664	0.005
	1	61.72±0.74 ^a	11.426	0.001
	10	57.02±1.05 ^a	15.566	0.001
KLE 细胞	对照组	28.18±0.66	46.578	0.001
	0.01	25.37±0.61 ^a	5.407	0.006
	0.1	23.86±1.69 ^a	4.138	0.014
	1	20.06±1.11 ^a	10.863	0.001
	10	18.21±0.57 ^a	19.800	0.001

注:不同浓度二甲双胍组与对照组比较,^a $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, ^a $P<0.05$.

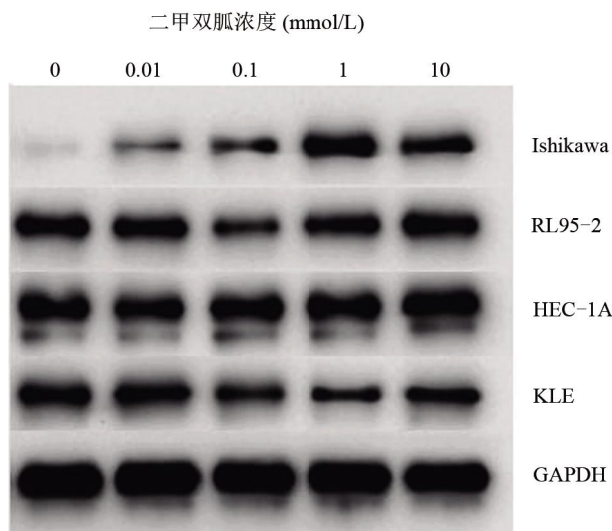


图 1 二甲双胍对子宫内 膜癌 细胞 PTEN 蛋白 表达 的影响

Figure 1 Effect of metformin on PTEN protein expression in endometrial cancer cells

3 讨论

近年来的研究普遍认为恶性肿瘤细胞的局部浸润和远处转移是实体肿瘤进展过程的关键。而其中 COX-2 是肿瘤血管生成和肿瘤生长的重要介质,并且肿瘤组织中 COX-2 蛋白的含量与 VEGF 的阳性表达密切相关,并认为 COX-2 的抑制剂有望成为肿瘤治疗的新靶点^[11]。在妇科恶性肿瘤方面,也有研究发现异常血管生成在子宫内膜癌的进展和转移过程中起重要作用,提示血清 COX-2 的水平可能是子宫内膜癌早期诊断和预测预后的潜在指标。同时研究也证实,COX-2 的表达是子宫内膜癌患者独立的临床病理因素和影响预后因素^[12],COX-2 的抑制剂可能在子宫内膜癌患者的预防和治疗中发挥重要作用^[13-14]。

本研究发现 4 种子宫内膜癌细胞 (Ishikawa、RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞) 中均存在 COX-2 和 VEGF 的高表达,而且二甲双胍能够抑制内膜癌细胞中 COX-2 和 VEGF 的表达。COX-2 在人体子宫内膜癌组织中的表达率相较于正常子宫内膜组织明显增强^[15-16],并且子宫内膜组织中 COX-2 的表达率随着子宫内膜从良性病变-非典型增生-恶性病变的进展呈阶梯性升高趋势^[17],提示 COX-2 抑制剂可能有助于阻止子宫内膜良性病变向侵袭性子宫内膜癌的进展。也有研究发现子宫内膜癌组织学分级程度与侵袭性参数和 COX-2 的表达率也密切相关^[18]。同时,COX-2 与肿瘤组织中微血管密度(MVD)也存在密切关系。多项研究^[19-20]发现在人体子宫内膜癌组织中 COX-2 和 VEGF 的表达有非常显著的相关性,COX-2 的表达增强伴有 VEGF 蛋白水平的明显升高、MVD 的增加以及促进肿瘤生长。另有研究指出人体子宫内膜癌中 VEGF、COX-2 的表达强度与子宫内膜癌的病理分级呈正相关^[21],而且 COX-2 的高表达对促进 VEGF 的表

达有显著作用^[13,22]。本研究还发现随着二甲双胍干预浓度的增加,子宫内膜癌细胞中 COX-2 和 VEGF 的表达均呈下降趋势,且差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 COX-2 和 VEGF 的表达具有密切相关性。此外,本研究发现子宫内膜癌 Ishikawa 细胞中 PTEN 蛋白表达较弱,而其余 3 种子宫内膜癌细胞(RL-952、HEC-1A 和 KLE)则高表达 PTEN,这与李小毛等^[23]的研究结果基本一致。Iglesias 等^[24]的研究也证实 HEC-1A 细胞高表达 PTEN 蛋白,而 Ishikawa 细胞的 PTEN 蛋白表达缺失,这也与本研究的结果相同。而且,本研究还发现,随着二甲双胍干预浓度的增加,Ishikawa 细胞中 PTEN 蛋白的表达也呈增强趋势,而其对 RL-952、HEC-1A 和 KLE 细胞中 PTEN 蛋白的表达则无显著影响。

众所周知,细胞内信号通路并非单独发挥作用,而是相互影响形成复杂的信号网络共同协调人体的各种生理功能。多种生长因子与其受体结合通过 PI3K/Akt 等信号通路发挥作用的同时也与其他生长因子受体途径存在着相互联系。既往有研究表明二甲双胍可以显著增加子宫内膜 Ishikawa 和 HEC-1A 细胞中 p-Akt 蛋白的表达,而对 Akt 的表达几乎无影响^[25],认为二甲双胍调节 PI3K/Akt 通路的活性可能是其发挥抗肿瘤能力的作用机制之一。同时,试验证实通过 PI3K/Akt 通路可以激活核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B)和增加子宫内膜癌细胞中 COX-2 和 VEGF 的表达^[26]。此外,也有研究认为人体子宫内膜癌中表皮生长因子受体-2 (HER2)可能通过 PI3K/Akt 信号通路来诱导子宫内膜癌细胞中 COX-2 的表达^[27]。本研究发现二甲双胍能够显著抑制子宫内膜癌细胞中 COX-2 和 VEGF 的表达,提示这可能是其发挥抗肿瘤作用的靶蛋白之一。结合以上研究推测二甲双胍可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路下调子宫内膜癌细胞中 COX-2 的表达,进而导致 VEGF 表达的降低,最终抑制内膜癌细胞的生长和转移,推测这可能是二甲双胍抗肿瘤的作用机制之一。

PTEN 是抑癌基因,该基因的突变是多种癌症进展过程的环节之一。尽管研究发现 PI3K/Akt 通路中 PTEN 的突变是子宫内膜癌中最常见的突变,但是 PTEN 基因突变在内膜癌中的意义仍不是非常清楚。有研究认为 PTEN 基因失活是子宫内膜样腺癌的主要驱动因素^[28],小鼠模型显示 PTEN 的两个等位基因的缺失对于复杂非典型增生(CAH)的发展是必要的和充分的,PI3K/Akt 通路突变或错配修复缺陷对进展为癌是必需的,PTEN 蛋白低表达可能参与了子宫内膜癌的发生和发展^[29-30]。PTEN 突变与子宫内膜癌(EC)患者的预后良好相关,并且与肿瘤微环境中的免疫浸润细胞有关,这些发现表明 PTEN 可能是 EC 的一个潜在的预测和治疗靶点^[31]。研究认为 HOX 转录反义基因

间 RNA (HOTAIR) 通过抑制 PTEN 激活 PI3K/Akt 通路促进子宫内膜癌的进程^[32]。同时,也有研究提示 PTEN 基因缺陷的子宫内膜样腺癌细胞对单独的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)抑制剂不敏感,而对复合型 PI3K 抑制剂表现出更高的敏感性^[33]。而本研究中 Ishikawa 细胞中 PTEN 蛋白的表达较弱,同时二甲双胍能够促进 Ishikawa 细胞中 PTEN 蛋白的表达,提示在子宫内膜样腺癌中二甲双胍可能通过促进 PTEN 的表达进而降低 PI3K/Akt 通路的活性,最终抑制内膜样腺癌细胞的生长和转移。但是,其余 3 种子宫内膜癌细胞(RL-952、HEC-1A 和 KLE)中高表达 PTEN,而且二甲双胍对其 PTEN 的表达无影响。因此,推测二甲双胍促进 PTEN 缺失子宫内膜癌细胞中 PTEN 的表达,进而抑制 PI3K/Akt 通路的活性可能是其中重要的抗肿瘤途径之一。

综上所述,二甲双胍可能通过抑制子宫内膜癌细胞中 COX-2 与 VEGF 的表达来实现其部分的抗肿瘤作用,推测其作用可能与 PI3K/Akt 信号通路密切相关。希望本研究结果能够为二甲双胍的抗肿瘤作用提供一定的试验依据。为了得到更详细明确的依据及结论,有必要开展进一步基础研究及前瞻性临床对照试验,以了解二甲双胍辅助治疗子宫内膜癌前病变及内膜癌患者的影响。

参考文献

- [1] Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2006, 20(2): 207-225.
- [2] Bowker SL, Yasui Y, Veugelers P, et al. Glucose-lowering agents and cancer mortality rates in type 2 diabetes: assessing effects of time-varying exposure [J]. Diabetologia, 2010, 53(8): 1631-1637.
- [3] Landman GW, Kleefstra N, van Hateren KJ, et al. Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16 [J]. Diabetes Care, 2010, 33(2): 322-326.
- [4] Ben Sahra I, Laurent K, Loubat A, et al. The antidiabetic drug metformin exerts an antitumoral effect *in vitro* and *in vivo* through a decrease of cyclin D1 level [J]. Oncogene, 2008, 27(25): 3576-3586.
- [5] Dowling RJ, Zakikhani M, Fantus IG, et al. Metformin inhibits mammalian target of rapamycin-dependent translation initiation in breast cancer cells [J]. Cancer Res, 2007, 67(22): 10804-10812.
- [6] Gotlieb WH, Saumet J, Beauchamp MC, et al. *In vitro* metformin anti-neoplastic activity in epithelial ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2008, 110(2): 246-250.
- [7] Cantrell LA, Zhou C, Mendivil A, et al. Metformin is a potent inhibitor of endometrial cancer cell proliferation—implications for a novel treatment strategy [J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(1): 92-98.
- [8] Meireles CG, Pereira SA, Valadares LP, et al. Effects of metformin on endometrial cancer: systematic review and meta-analysis [J]. Gynecol Oncol, 2017, 147(1): 167-180.
- [9] Rizzo MT. Cyclooxygenase-2 in oncogenesis [J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(9-10): 671-687.
- [10] Tsikouras P, Bouchlariotou S, Vrachnis N, et al. Endometrial cancer: molecular and therapeutic aspects [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod

- Biol, 2013, 169(1): 1-9.
- [11] Hashemi Goradel N, Najafi M, Salehi E, et al. Cyclooxygenase-2 in cancer: a review [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5683-5699.
- [12] Lambropoulou M, Alexiadis G, Limberis V, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of cyclooxygenase-2 expression in endometrial carcinoma [J]. *Histol Histopathol*, 2005, 20(3): 753-759.
- [13] Sunita BS, Sen A, Suhag V. To evaluate immunoreactivity of cyclooxygenase-2 in cases of endometrial carcinoma and correlate it with expression of p53 and vascular endothelial growth factor [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(6): 1366-1372.
- [14] Ye Y, Wang X, Jeschke U, et al. COX-2-PGE(2)-EPs in gynecological cancers [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2020, 301(6): 1365-1375.
- [15] Peng SW, Zhan SY, Luo PY. Expressions and significances of Cox-2, estrogen receptor and progesterone receptor in endometrial cancer [J]. *Jiangxi Medical Journal*, 2015, 50(10): 1008-1010.
彭诗维, 占诗艳, 罗蒲英. 环氧化酶-2 在子宫内膜癌中的表达及意义[J]. *江西医药*, 2015, 50(10): 1008-1010.
- [16] Kosmas K, Mitropoulou G, Stamoulas M, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in imprint smears of endometrial carcinoma [J]. *Diagn Cytopathol*, 2020, 48(11): 1086-1092.
- [17] Lu CY, Jiao Y, CAI QM. The expression and clinical significance of COX-2 in type I endometrial carcinomas and precancerous lesions [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2019, 40(21): 3011-3015.
陆春燕, 焦艳, 才秋敏. COX-2 在 I 型子宫内膜癌和癌前病变中的表达及临床意义[J]. *广东医学*, 2019, 40(21): 3011-3015.
- [18] Ferrandina G, Legge F, Ranelletti FO, et al. Cyclooxygenase-2 expression in endometrial carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and clinical outcome [J]. *Cancer*, 2002, 95(4): 801-807.
- [19] Li W, Xu RJ, Zhang HH, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 correlates with tumor angiogenesis in endometrial carcinoma [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2006, 16(4): 1673-1678.
- [20] 陈俊雅, 廖秦平. 环氧化酶-2 在子宫内膜癌中的表达[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2009, 41(6): 657-663.
- [21] Liao D, Deng YL, Yu ZY, et al. Vasculogenic mimicry and VEGF, COX-2 expression in Endometrial carcinoma and their significances [J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2015, 14(17): 1418-1421.
廖丹, 邓亚丽, 禹正扬, 等. 子宫内膜癌血管生成拟态与 VEGF、COX-2 表达的意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2015, 14(17): 1418-1421.
- [22] Cao GY, Zhu T, Shen CR, et al. Analysis of COX-2 protein and VEGF expression in patients with endometrial cancer [J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2015, 13(8): 1298-1300.
曹桂英, 朱滔, 沈彩糯, 等. 子宫内膜癌患者的 COX-2 蛋白及 VEGF 的表达情况分析[J]. *中华全科医学*, 2015, 13(8): 1298-1300.
- [23] Li XM, Xiao L, Yang YB, et al. Study on the activation of mammalian target of rapamycin in two endometrial carcinoma cells [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2008, 46(9): 1452-1454.
李小毛, 肖兰, 杨越波, 等. 两株子宫内膜癌细胞中 mTOR 信号通路激活的研究[J]. *广东医学*, 2008, 46(9): 1452-1454.
- [24] Iglesias DA, Yates MS, van der Hoeven D, et al. Another surprise from Metformin: novel mechanism of action via K-Ras influences endometrial cancer response to therapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(12): 2847-2856.
- [25] He TH, Liu L, Lei L, et al. The effect of metformin inhibits migration of endometrial carcinoma cells [J]. *Progress in Obstetrics and Gynecology*, 2013, 22(10): 792-795, 799.
贺天虎, 刘岚, 雷蕾, 等. 二甲双胍对子宫内膜癌细胞迁徙能力的影响[J]. *现代妇产科进展*, 2013, 22(10): 792-795, 799.
- [26] Yoshizawa Y, Yamada Y, Kanayama S, et al. Signaling pathway involved in cyclooxygenase-2 up-regulation by hepatocyte growth factor in endometrial cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(4): 957-964.
- [27] Yu ZJ, Ma XX, Zhang R, et al. The effect on the proliferation of Ishikawa cells induced by HER-2/neu through inhibiting PI3K/Akt signal pathway [J]. *Shanxi Medical Journal*, 2012, 41(11): 1071-1074.
于志娟, 马晓欣, 张茹, 等. 抑制 PI3K/Akt 信号通路对 HER-2/neu 诱导的 Ishikawa 细胞增殖的影响[J]. *山西医药杂志*, 2012, 41(11): 1071-1074.
- [28] Bell DW, Ellenson LH. Molecular genetics of endometrial carcinoma [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 339-367.
- [29] Joshi A, Ellenson LH. PI3K/PTEN/AKT genetic mouse models of endometrial carcinoma [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 943: 261-273.
- [30] Feng ZZ, Chen JW, Yang ZR, et al. Expression of PTTG1 and PTEN in endometrial carcinoma: correlation with tumorigenesis and progression [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(1): 304-310.
- [31] Tao Y, Liang B. PTEN mutation: a potential prognostic factor associated with immune infiltration in endometrial carcinoma [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(6): 152943.
- [32] Zhang XH, Hu P, Xie YQ, et al. Long noncoding RNA HOTAIR promotes endometrial carcinoma cell proliferation by binding to PTEN via the activating phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway [J]. *Mol Cell Biol*, 2019, 39(23): e00251-19.
- [33] Bian X, Gao J, Luo F, et al. PTEN deficiency sensitizes endometrioid endometrial cancer to compound PARP-PI3K inhibition but not PARP inhibition as monotherapy [J]. *Oncogene*, 2018, 37(3): 341-351.

(收稿日期:2022-03-17)