53.
ULUSAL
DİYABET KONGRESİ
19 - 23 Nisan 2017 | Elexus Hotel / Girne - K.K.T.C.

Metforminin Antikanserojen Etkileri

Dr. Aslı Nar

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

Metforminin Antikanserojen etkileri

METABOLİK
Obezite+hiperinsülinemi ve Kanser riski

--- 2005

EPİDEMİYOLOJİK
Metformin ve kanser riski+mortalite ilişkisi

--- 2007

PREKLİNİK
In vitro ve hayvan modelleri
Metforminin anti-kanser aktivitesi

--- 2008

--- 2009

MEKANİZMA
Anti-kanser aktivite
AMPK/mTOR'un rolü
CSC'in metformine hassasiyeti

--- 2010

TÖROPETİK
İnsanda retrospektif ve prospektif kanıtlar

--- 2017

Evans JM et al. BMJ. 2005

Metformin use in patients with type 2 diabetes and controls in Tayside, Scotland, 1993-2001

Evans JM, et al. BMJ. 2005

Karıştırıcı değişken yok

	No (%)			
	Cases (n=983)	Controls (n=1846)	Unadjusted odds ratios (95% CI)	Adjusted odds ratios (95% CI)
Exposure during year before index date:				
No	587 (63.6)	1114 (60.4)	1.00	1.00
Yes	336 (36.4)	732 (39.7)	0.86 (0.73 to 1.02)	0.85 (0.71 to 1.01)
Any exposure to metformin since January 1993:				
No	547 (59.3)	996 (54.0)	1.00	1.00
Yes	376 (40.7)	850 (46.0)	0.79 (0.67 to 0.93)	0.77 (0.64 to 0.92)
Duration (days):				
0	547 (59.3)	996 (54.0)	1.00	1.00
1-634	127 (13.8)	282 (15.3)	0.81 (0.64 to 1.02)	0.80 (0.62 to 1.02)
635-1806	143 (15.5)	273 (14.8)	0.93 (0.74 to 1.17)	0.92 (0.72 to 1.17)
>1806	106 (11.5)	295 (16.0)	0.62 (0.47 to 0.80)	0.56 (0.43 to 0.74)
Total prescriptions dispensed:				
0	547 (59.3)	996 (54.0)	1.00	1.00
1-11	127 (13.8)	282 (15.3)	0.82 (0.65 to 1.04)	0.82 (0.64 to 1.04)
12-31	122 (13.2)	281 (15.2)	0.77 (0.61 to 0.99)	0.75 (0.58 to 0.97)
>31	127 (13.8)	291 (15.8)	0.76 (0.60 to 0.98)	0.73 (0.56 to 0.94)
Total amount of metformin dispensed (mg):				
0	547 (59.3)	996 (54.0)	1.00	1.00
14 000-672 000	130 (14.1)	279 (15.1)	0.84 (0.67 to 1.06)	0.83 (0.65 to 1.06)
673 000-964 000	138 (15.0)	279 (15.1)	0.88 (0.69 to 1.10)	0.86 (0.68 to 1.10)
>964 000	108 (11.7)	292 (15.8)	0.63 (0.49 to 0.82)	0.57 (0.43 to 0.75)

Anti-kanserojen ajan olarak Metformin

Referans	*T2DM var mı?*	*Kanser Tipi*	*Anti-kanserojen etki*
Evans, 2005	+	Herhangibiri	+
Decensi, 2010	+	HCC, Pank	+
Decensi, 2010	+	Kolon, meme, prost	--
Hadad, 2011	--	Meme	+
Tan, 2011	+	NS akciğer	+
Campagnoli, 2012	--	Meme	+
Yin, 2013	+	Herhangibiri	+
Suissa, 2014	+	Herhangibiri	--
Lee, 2015	+	Mide	+
Vissers, 2015	+	Meme	--
Dowling, 2015	--	Meme	+
El-Haggar, 2016	--	Meme	+
Jang WI, 2017	+	Pankreas	+

VOLUME 27 · NUMBER 20 · JULY 10 2009

JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

ORIGINAL REPORT

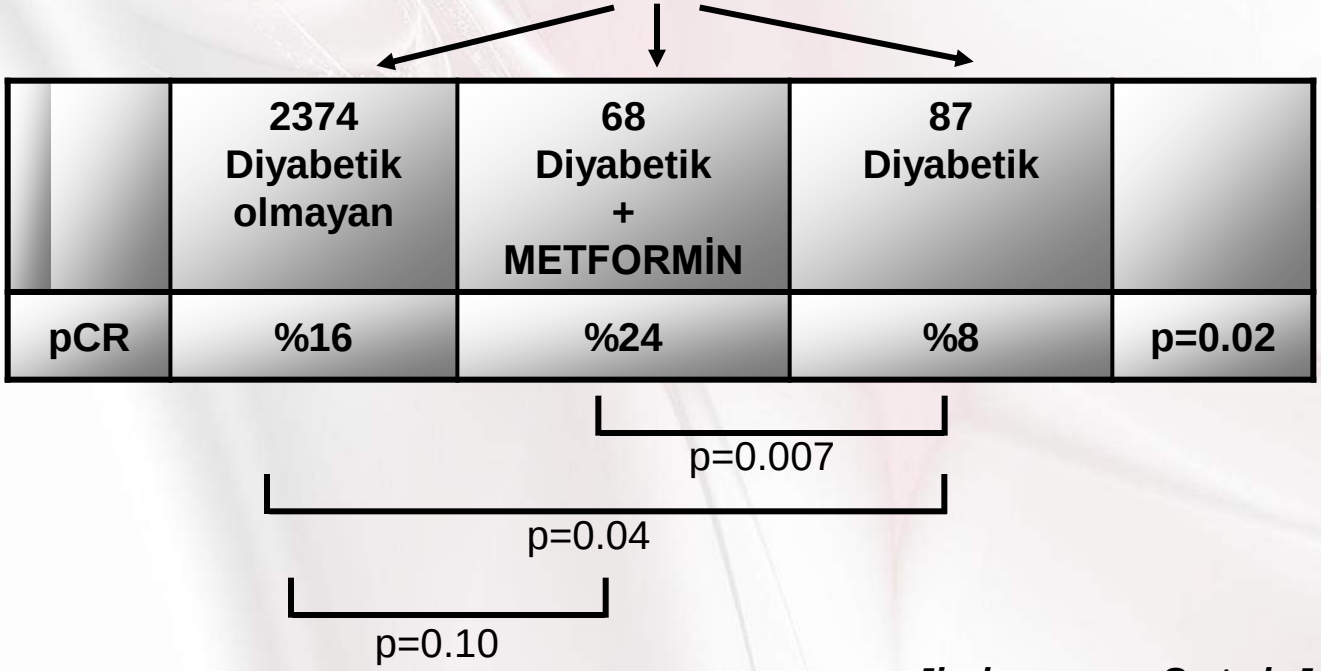
Metformin and Pathologic Complete Responses to Neoadjuvant Chemotherapy in Diabetic Patients With Breast Cancer

Sao Jiralerspong, Shana L. Palla, Sharon H. Giordano, Funda Meric-Bernstam, Cornelia Liedtke, Chad M. Barnett, Limin Hsu, Mien-Chie Hung, Gabriel N. Hortobagyi, and Ana M. Gonzalez-Angulo

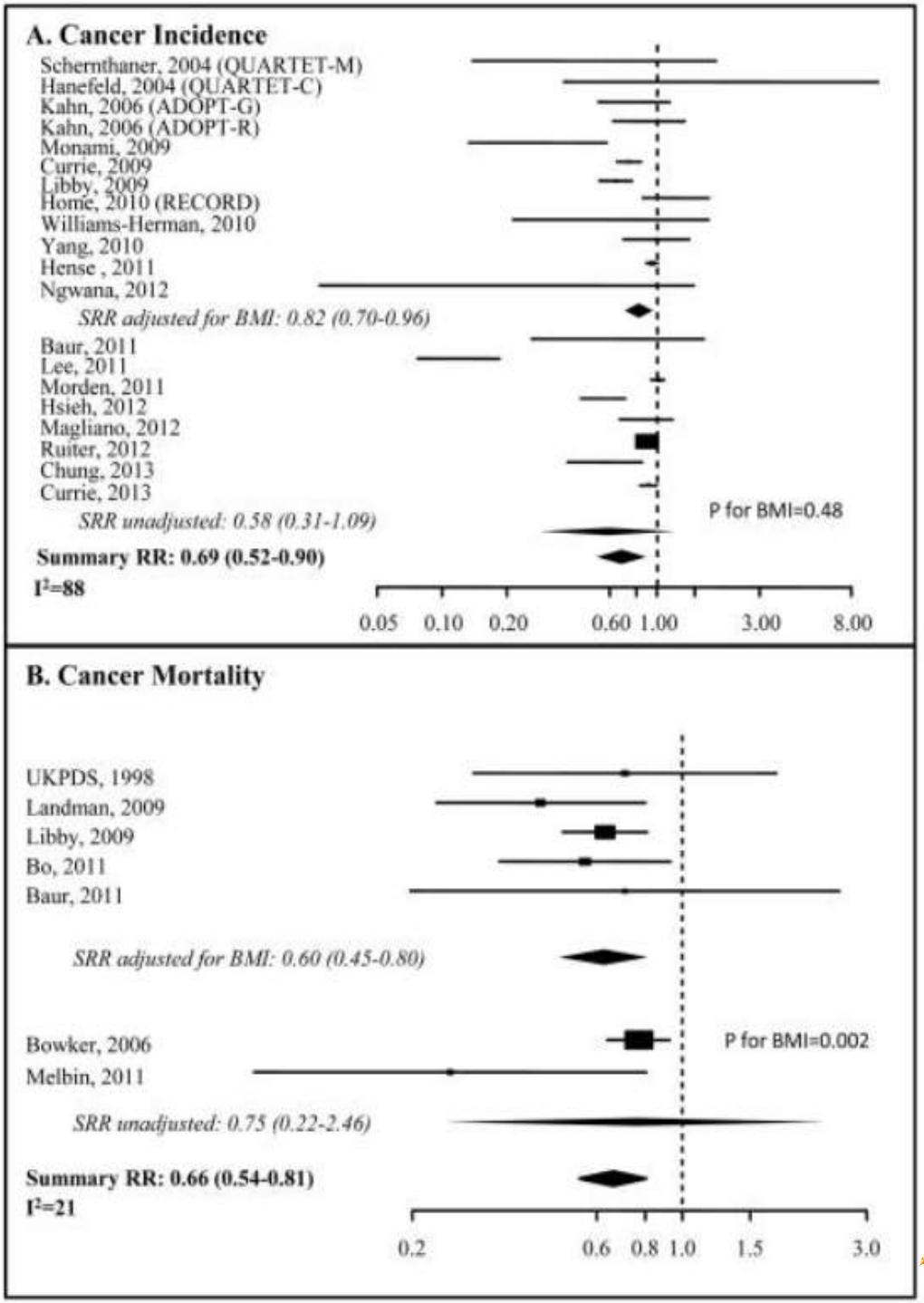
Çalışma grupları arasında Patolojik Tam Cevap (DM olmayan, T2DM, metformin ve T2DM)

Meme kanserinde en yüksek neoadjuvan tedavi cevabı METFORMİN grubunda

2529 hasta neoadjuvant tedavi aldı (MD Anderson)



Jiralersprong S et al, J Clin Oncol, 2009

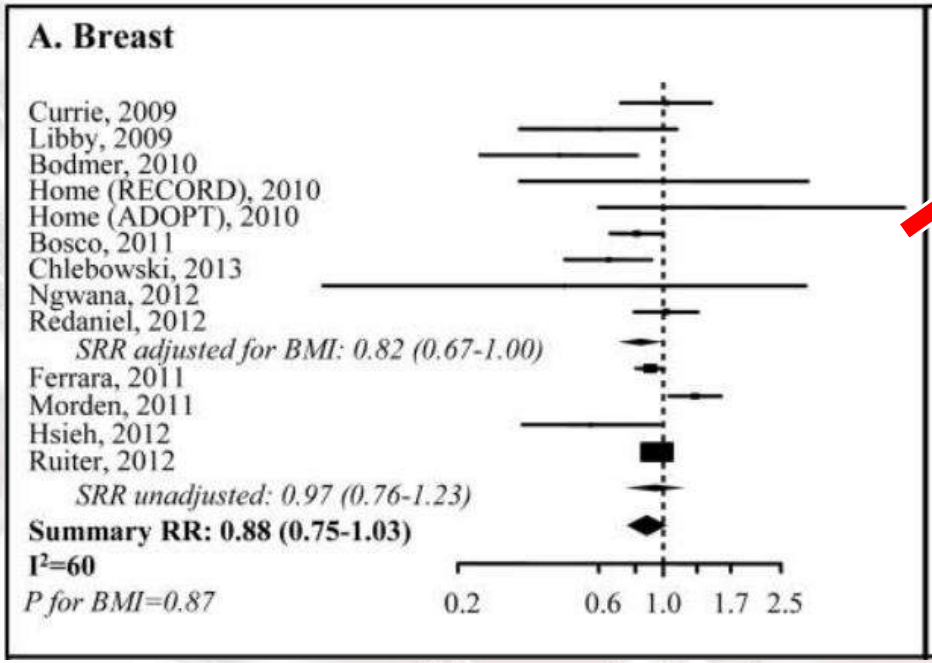


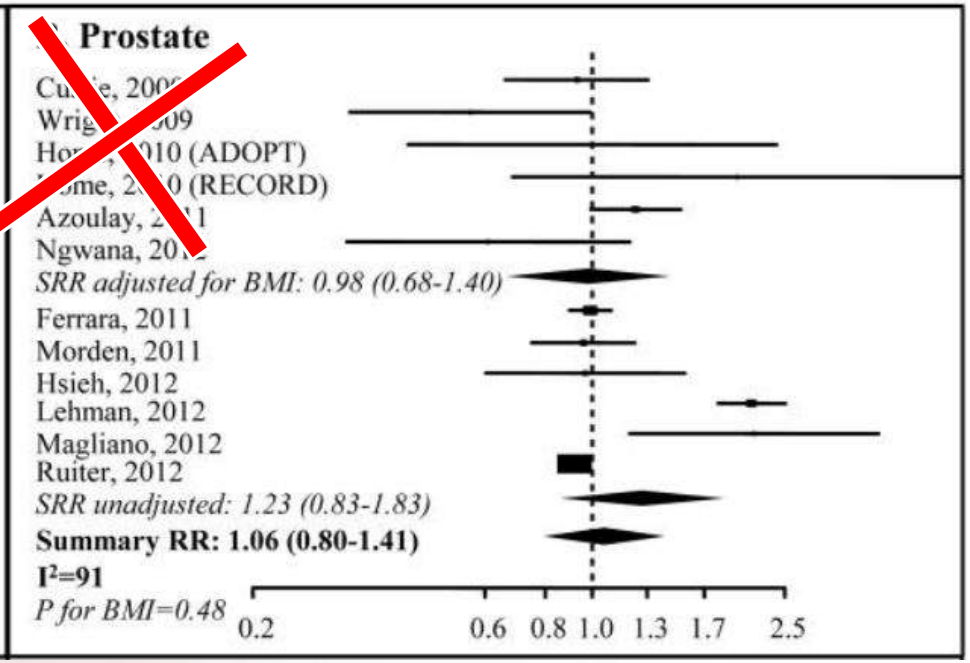
Summary Risk Estimates (SRRs) and 95% Confidence Intervals (95%CI) f

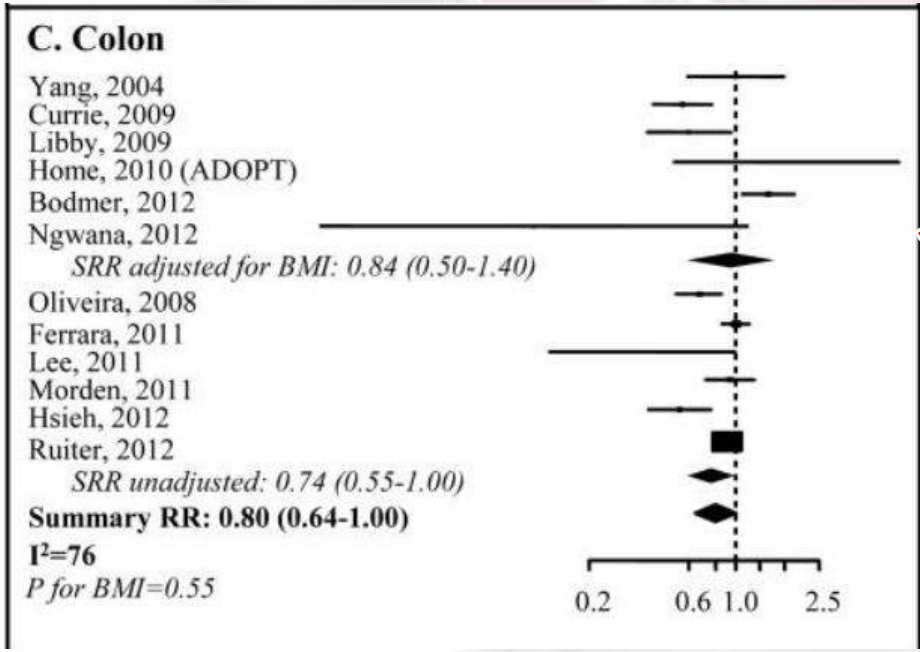
Endpoints	Groups	SRR (95%CI)	I^2	n studies*
Cancer incidence	All studies	0.69 (0.52, 0.90)	88	19
	Adjusted for BMI	0.82 (0.70, 0.96)	76	11
	Adjusted for time related bias	0.90 (0.89, 0.91)	56	8
	Prospective studies	0.71 (0.47, 1.07)	89	12
	Randomized Clinical Trials	0.95 (0.69, 1.30)	5	5
Cancer mortality	All studies	0.66 (0.54, 0.81)	21	7
	Adjusted for BMI	0.60 (0.45, 0.80)	0	5
	Adjusted for time related bias	0.45 (0.16, 1.26)	0	3
	Prospective studies	0.48 (0.23, 0.97)	0	4

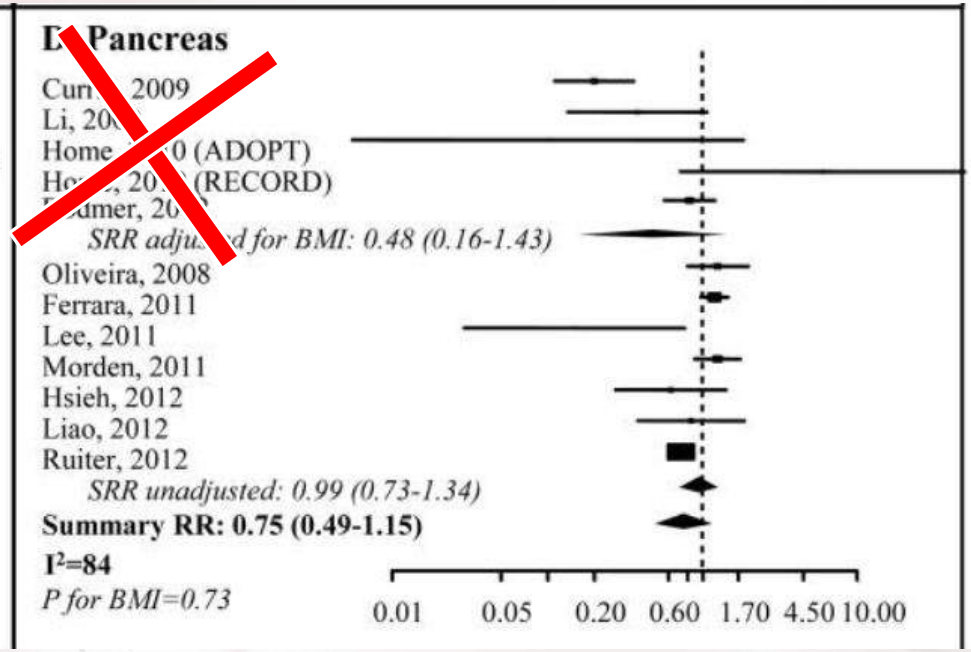
- **Meta-analiz**
- **1998-2013**
- **47 çalışma, 65,540 hasta**
- **T2DM, metformin vs diğer tedavi**
- **Kanser riski: %31↓**
- **Kanser mortalitesi: %34 ↓**

Gandini S et al, Cancer Prev Res (Phila), 2014

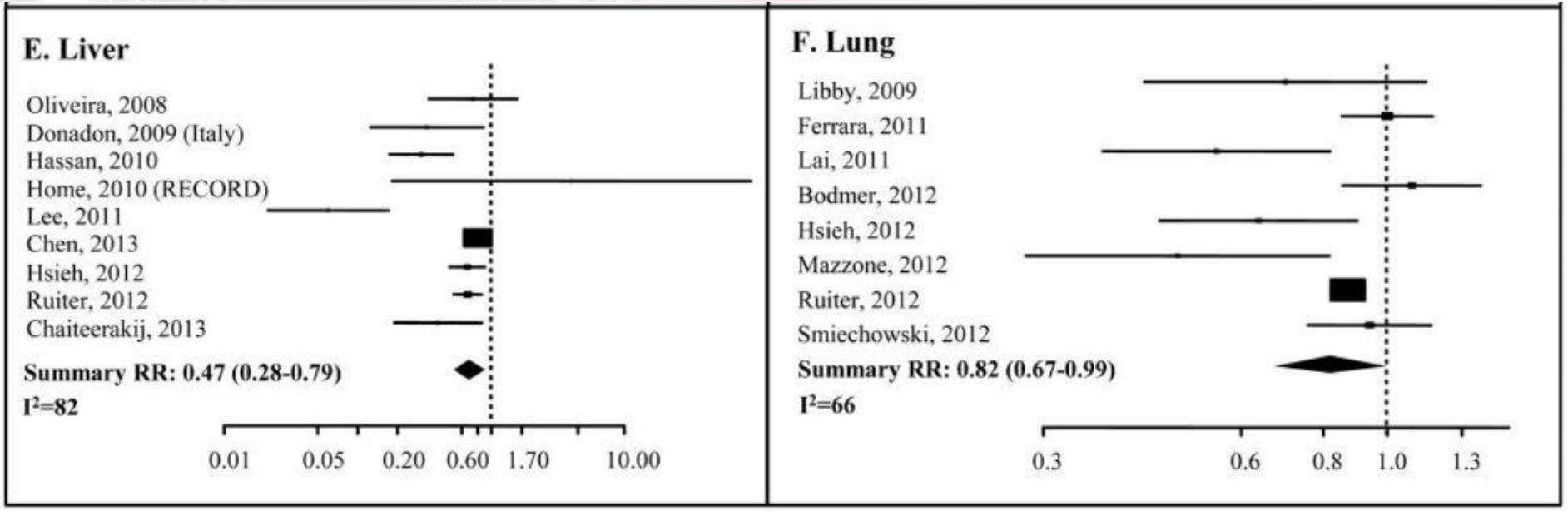








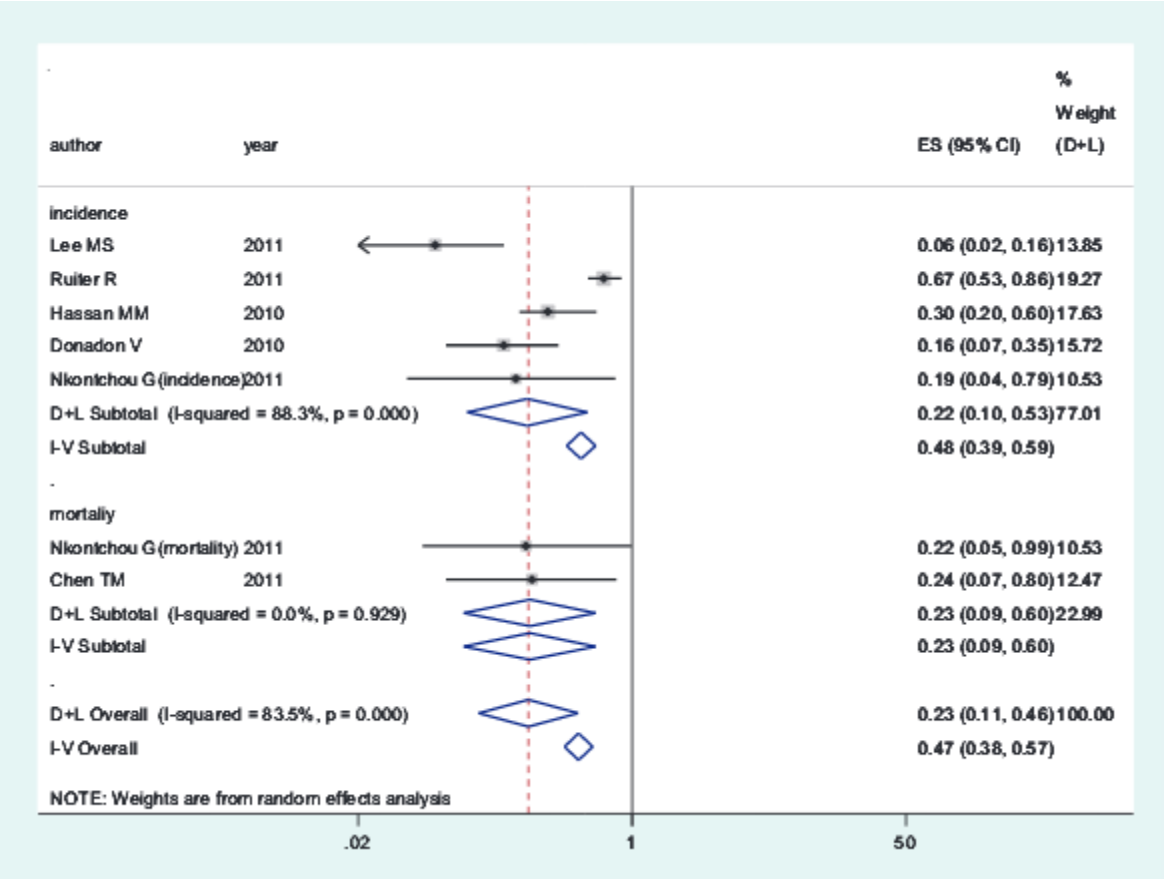
Gandini S et al, Cancer Prev Res (Phila) 2014



Gandini S et al, Cancer Prev Res (Phila) 2014

Metformin kanser insidansını azaltmaktadır

- Tüm kanserler
- Karaciğer
- Pankreas
- Kolorektal
- Meme kanseri
- Mide
- Ösefagus
- Prostat kanseri üzerine etkisi ?

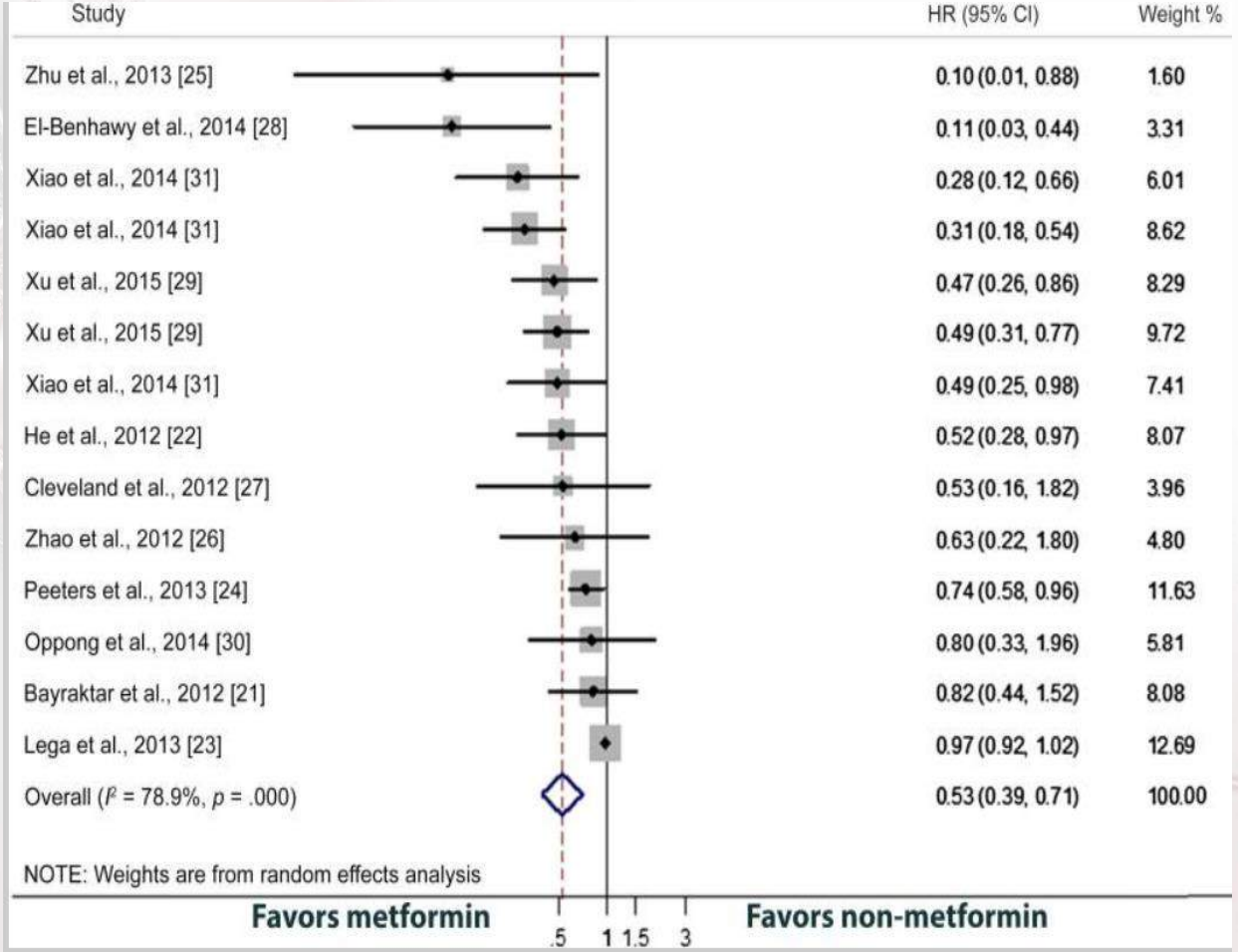


Zhang P, et al. Cancer Epidemiol. 2013

Decenci A et al, Cancer Prev Res, 2010

Metformin kanser sürvisini arttırmaktadır

- Tüm kanserler
- Pankreas
- Meme kanseri
- Over
- Kolorektal
- Endometrium
- Ösefagus
- Prostat
- Akciğer

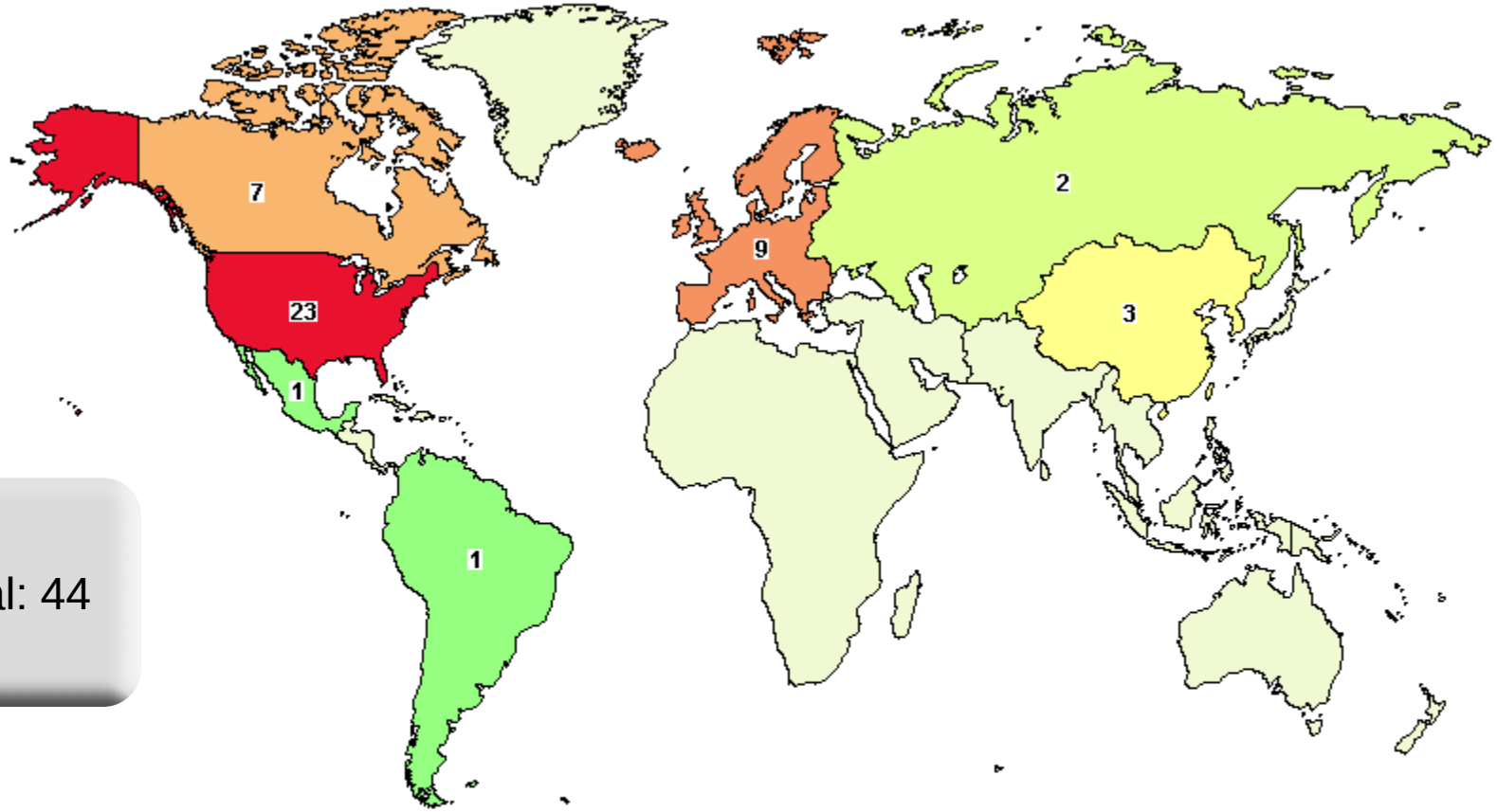


Zhang P, et al. Cancer Epidemiol. 2013

Xu H et al, Oncologist, 2015

Metformin ve Meme Kanseri

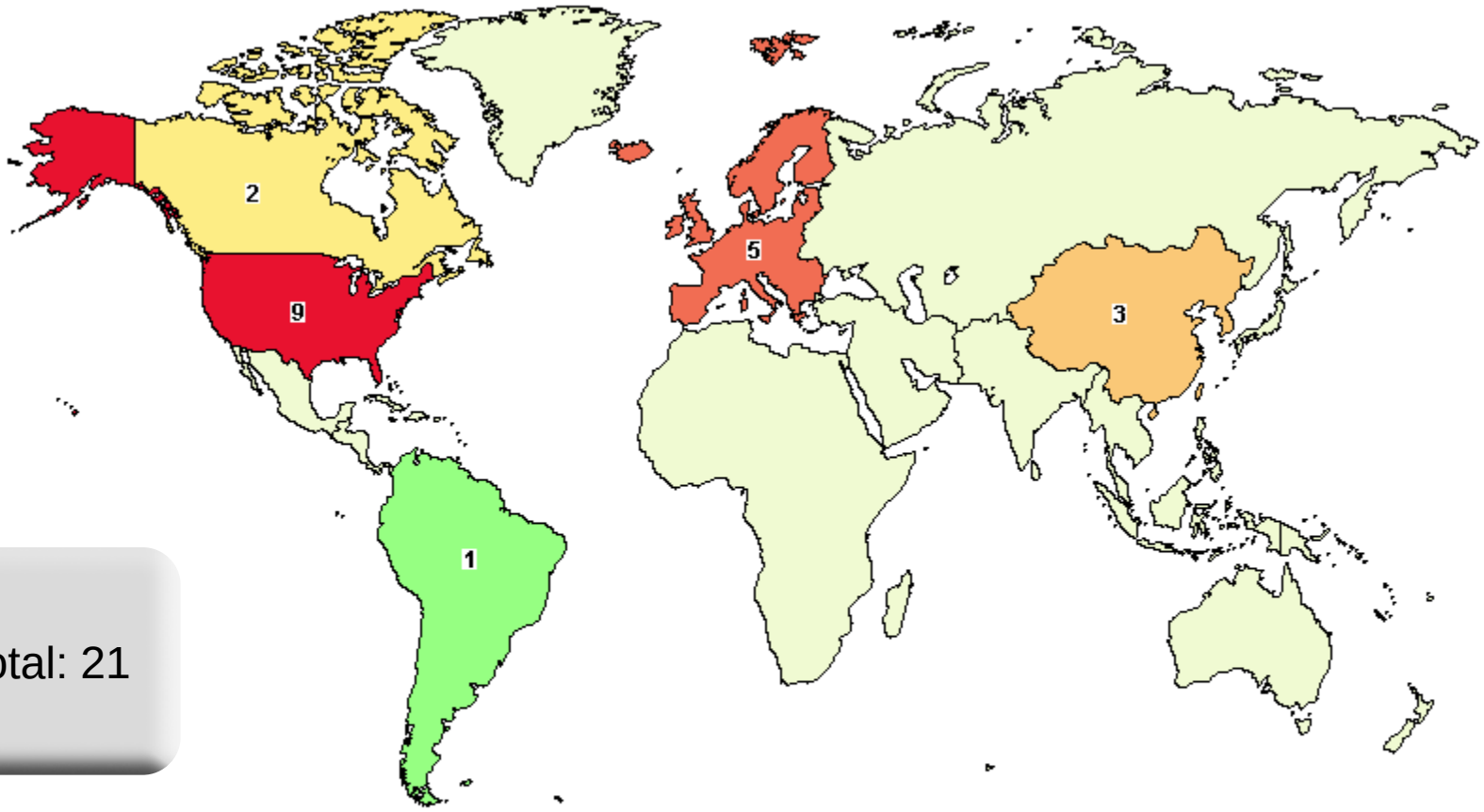
https://ClinicalTrials.gov 3/4/2017



Total: 44

Source:https://ClinicalTrials.gov

Metformin ve Pankreas Kanseri https://ClinicalTrials.gov 3/4/2017

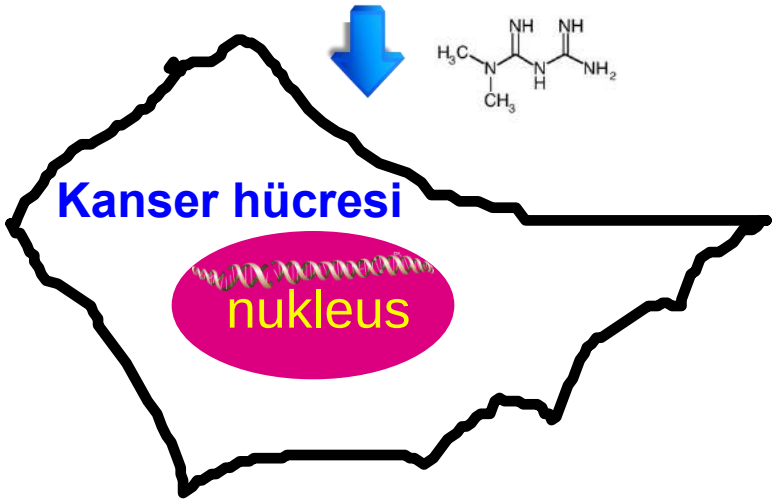


Total: 21

Source:https://ClinicalTrials.gov

Metforminin Antikanserojen Etkileri Mekanizmalar

Metformin



Dolaylı
(İnsülin düşürücü etki)

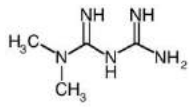
Direkt
(insülin bağımsız)

AMPK-bağımlı

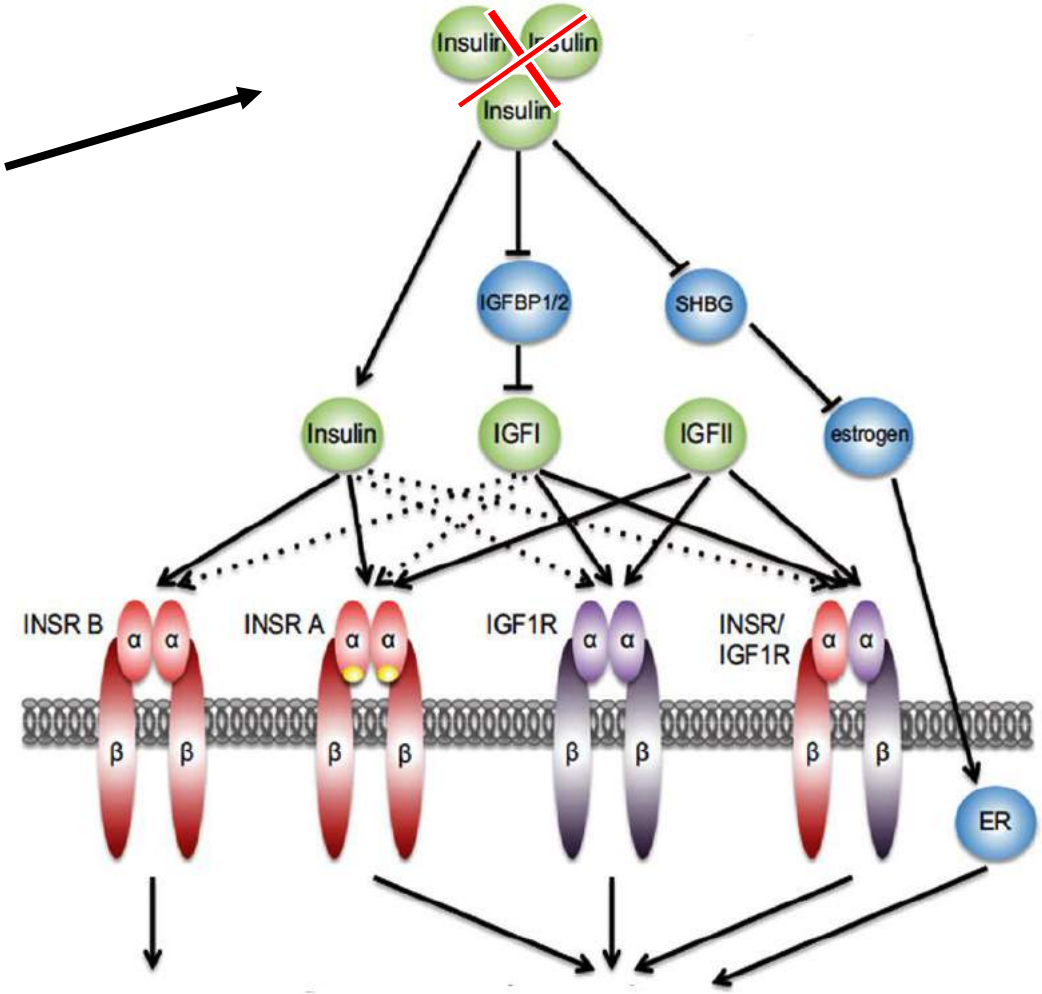
AMPK-bağımsız

Antikanserojen etkiler

Glukoz ↓
İnsülin ↓



Metformin



Metabolik sinyal

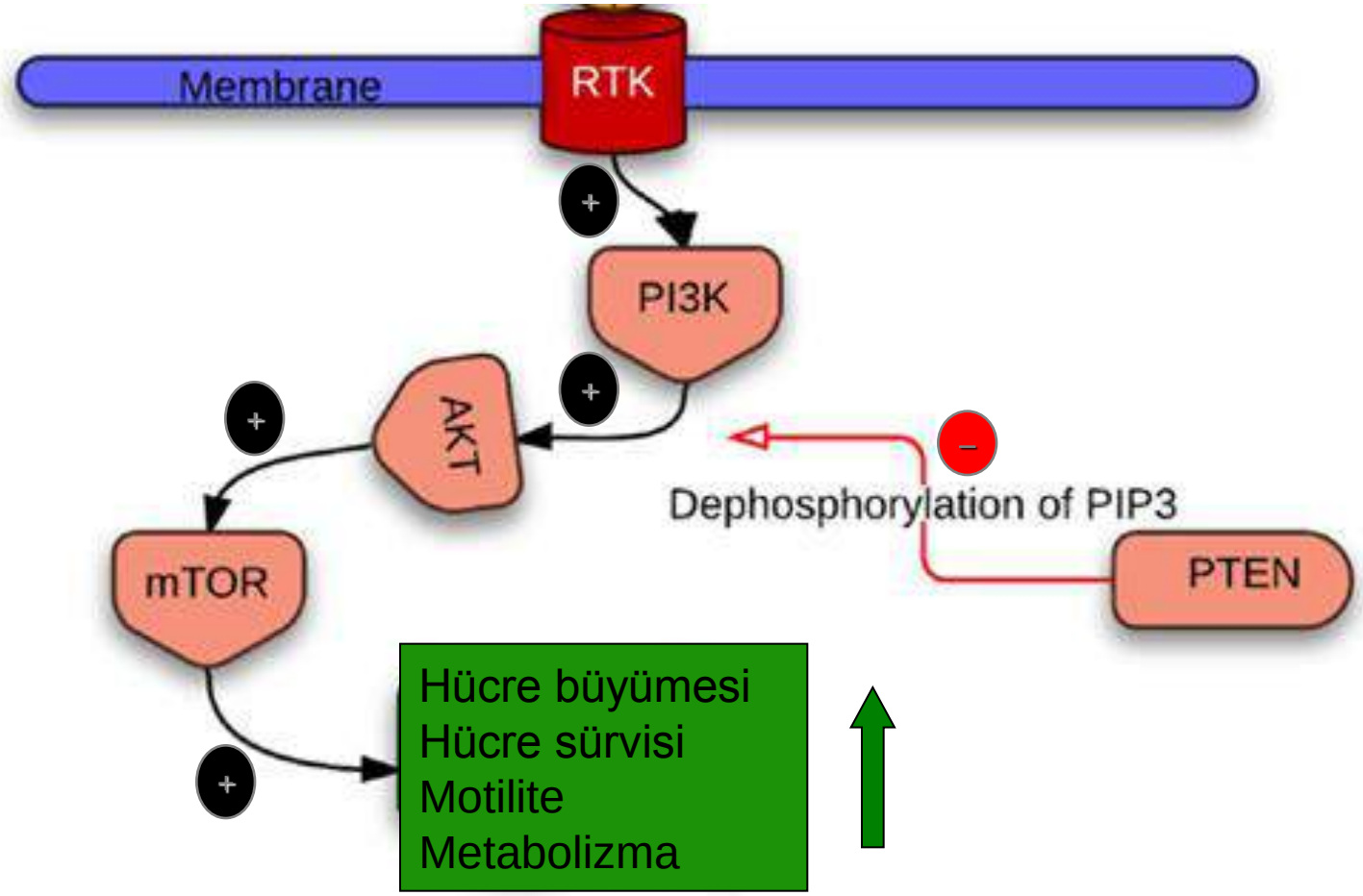
Mitojenik sinyal

Tümör

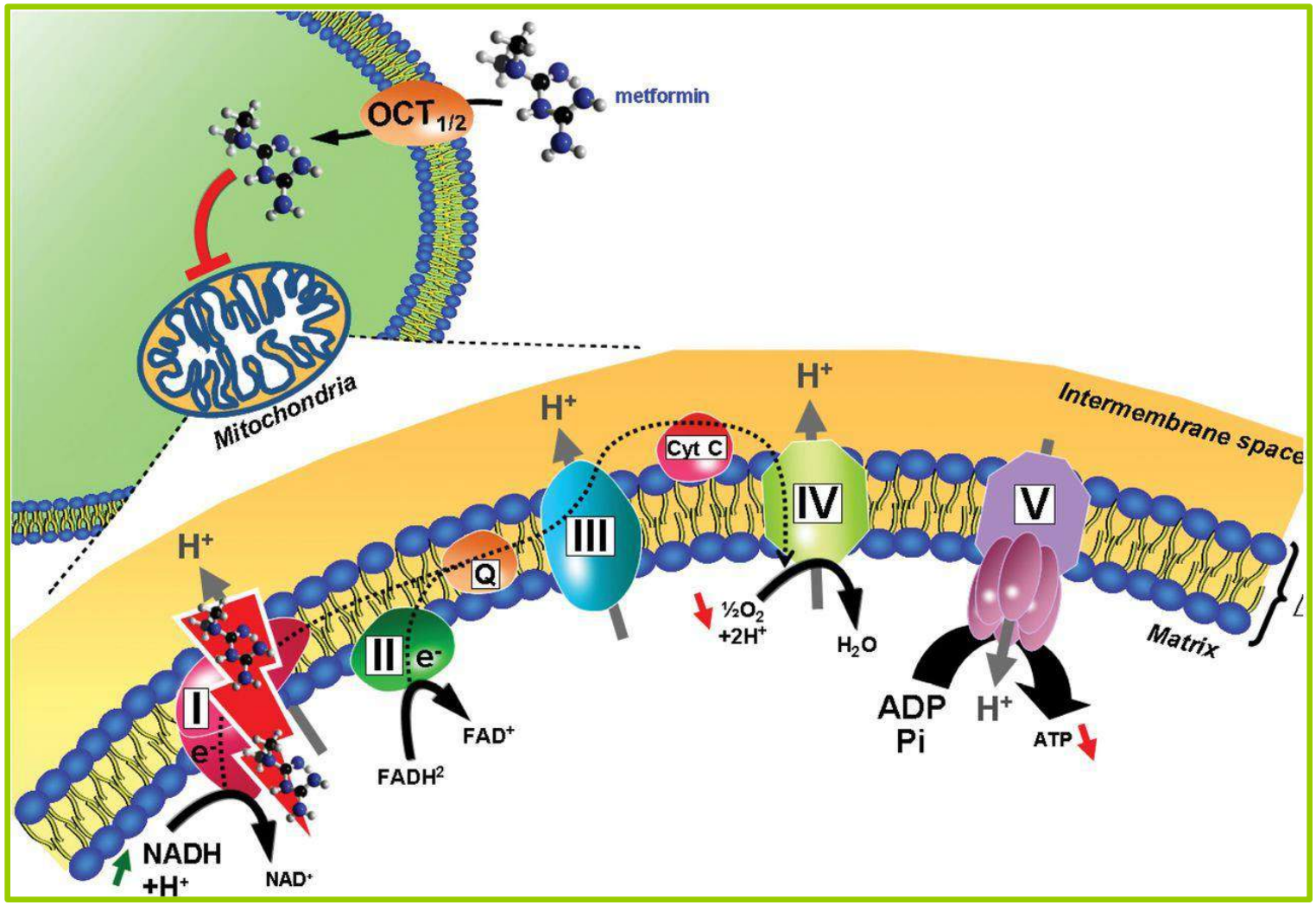
Poloz Y et al, Cell Death and Disease, 2015

LKB1-AMPK sinyal yolağı

PI3K/PTEN/AKT/mTOR sinyal yolağı mutasyonları, kanser gelişiminde önemlidir

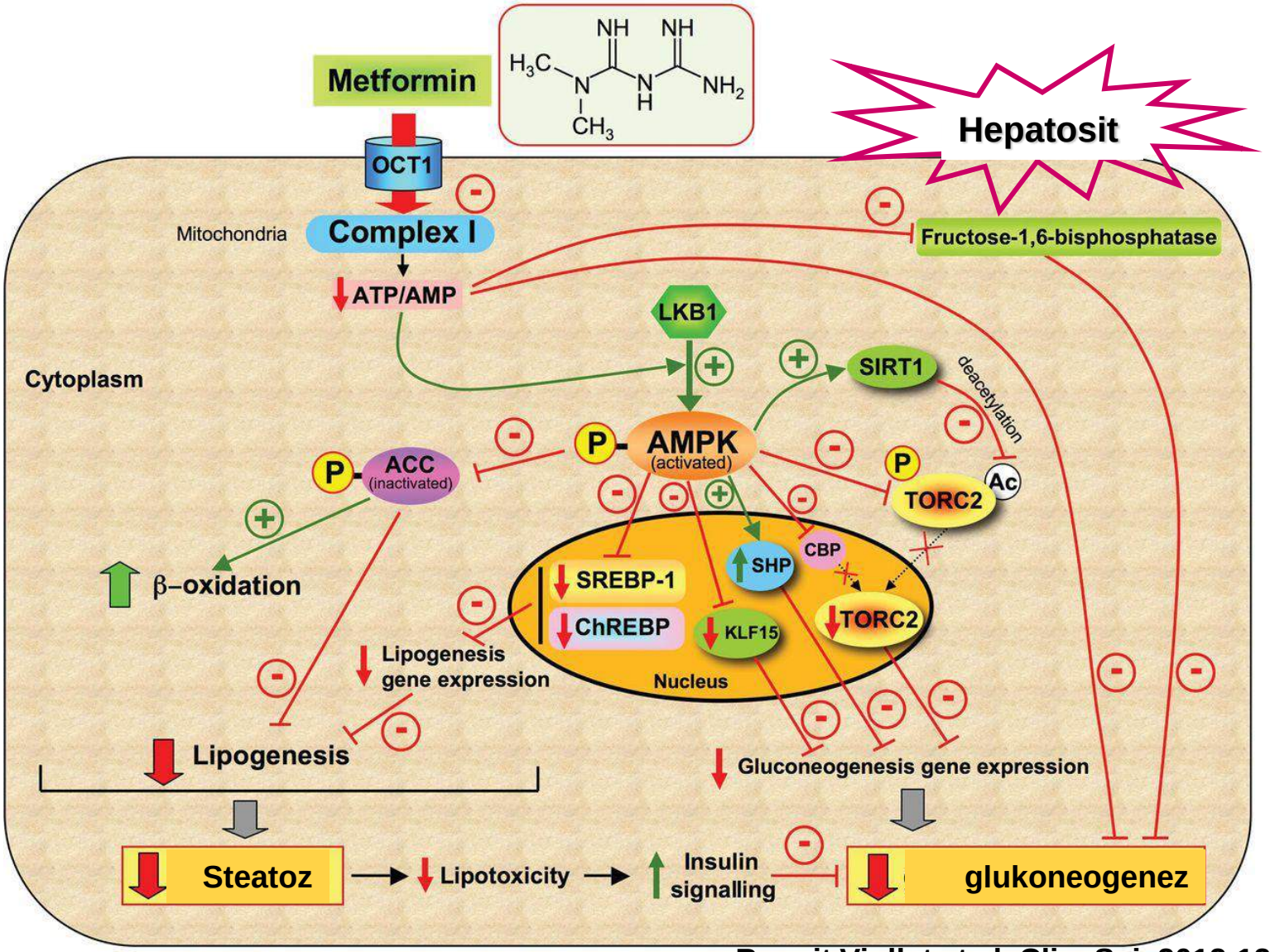


Metforminin primer hedefi: Mitokondrial Respiratory Chain Complex I



Benoit Viollet et al. Clin Sci. 2012

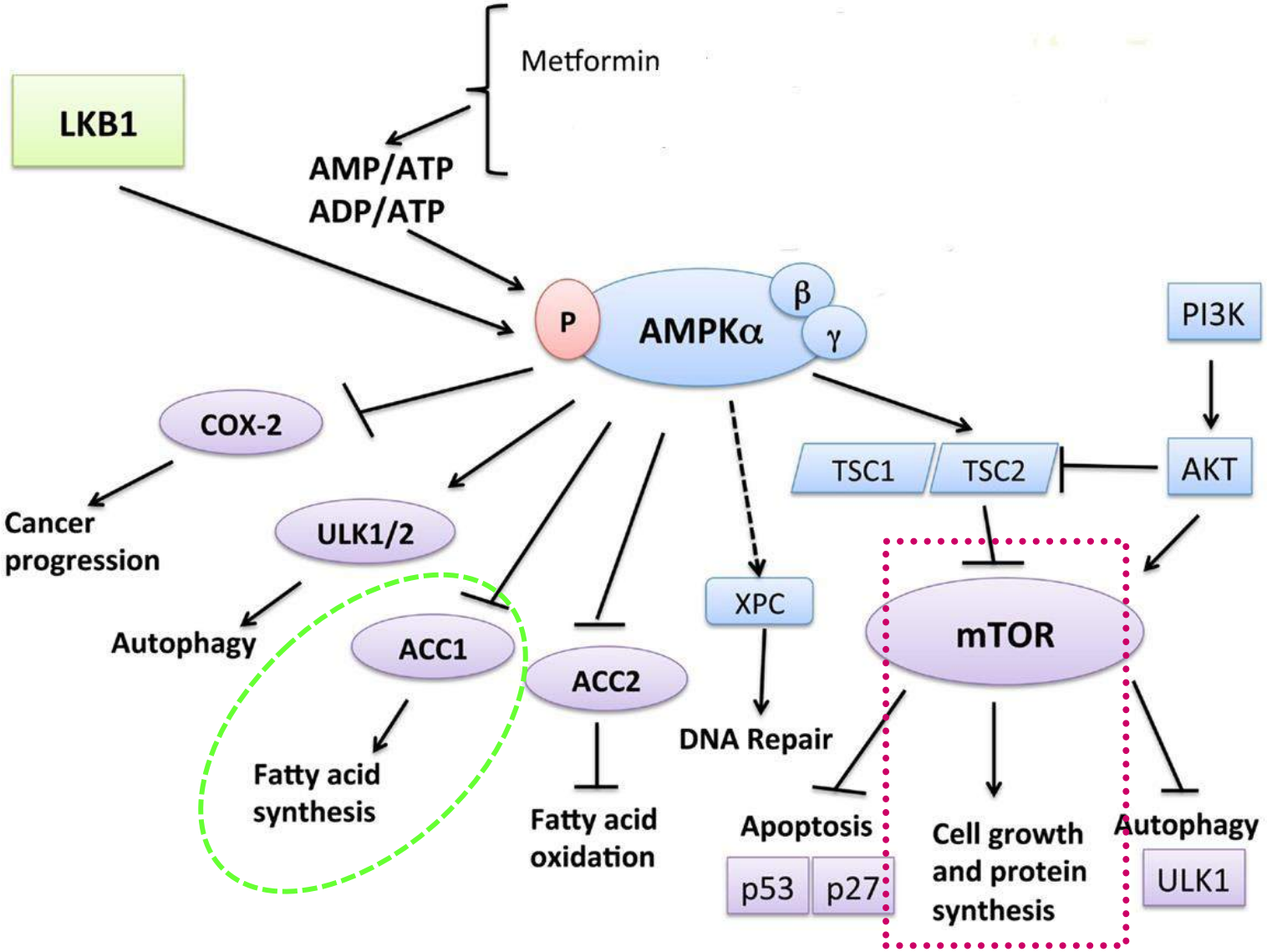
Metformin LKB1'ye bağlı AMPK sinyal yolağını aktive eder



Benoit Viollet et al. Clin. Sci. 2012;122:253-270

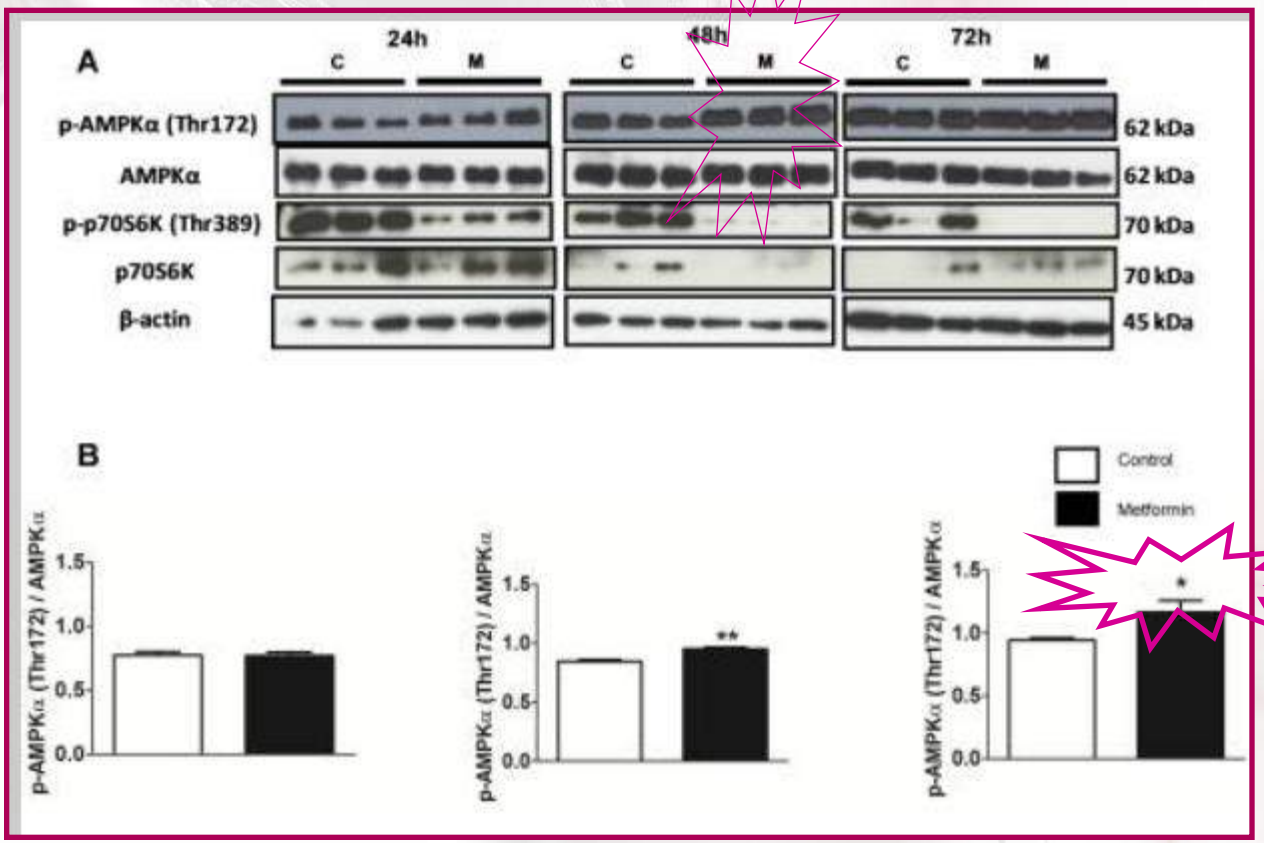
AMPK

→ mTOR sinyali inhibisyonu → protein sentez inhibisyonu



- **Meme kanser hücreleri**
- **10 mM metformin; 24, 48, 72. saat,**

western blot



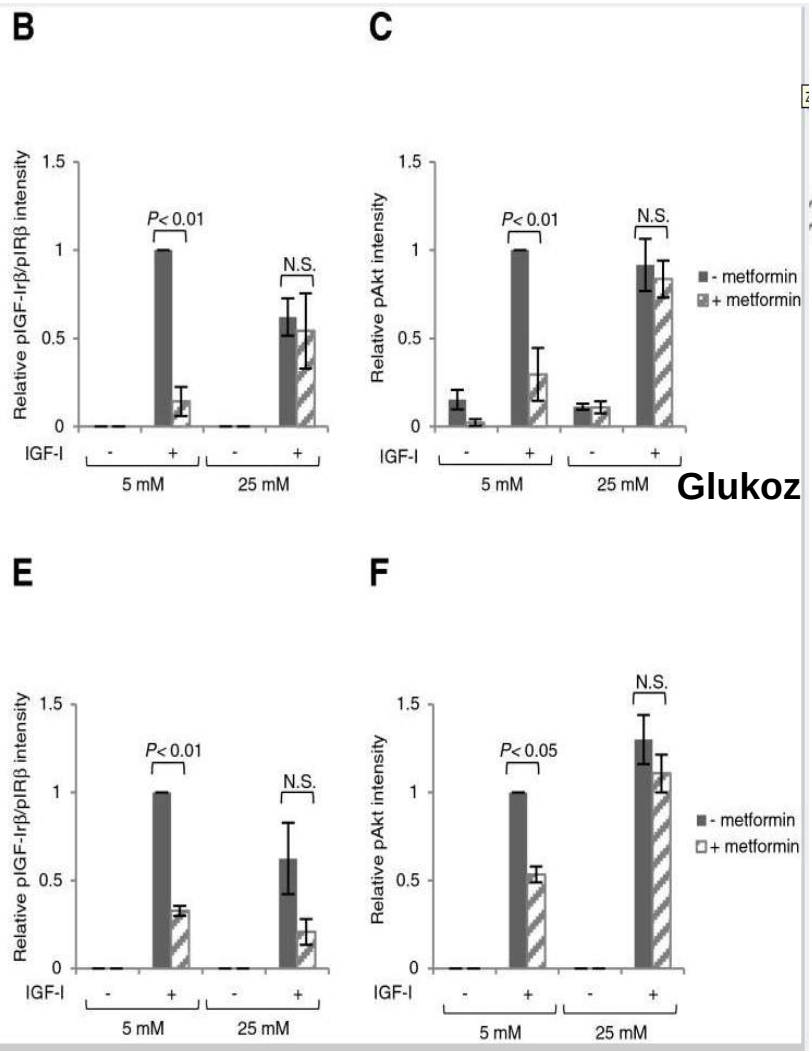
Metformin meme kanseri hücresinde (MCF-7) AMPK aktivitesini ↑

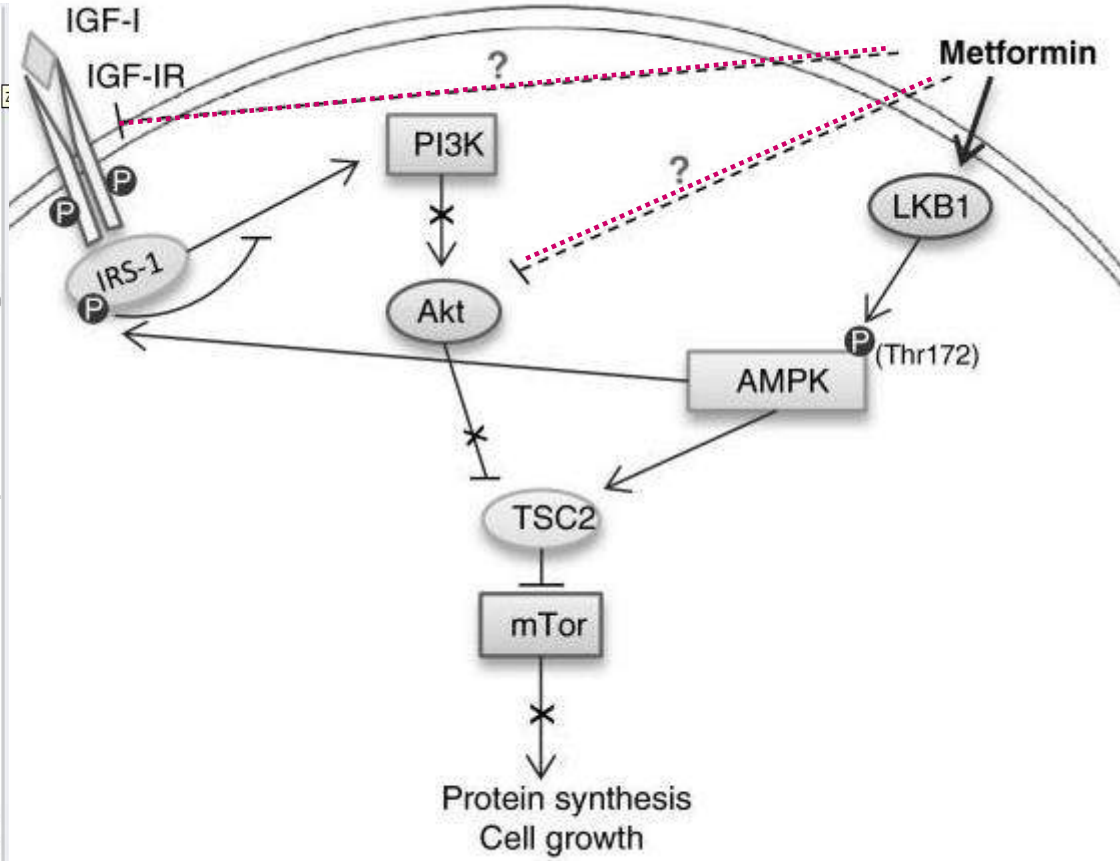
Queiroz EA, et al. PLoS ONE. 2014

İnsülin/IGF sinyal yolağı

Metformin, AMPK$_{Thr172}$ aktivasyonu ile insülin/IGF sinyal yolağını suprese eder

Pankreas kanseri hücreleri



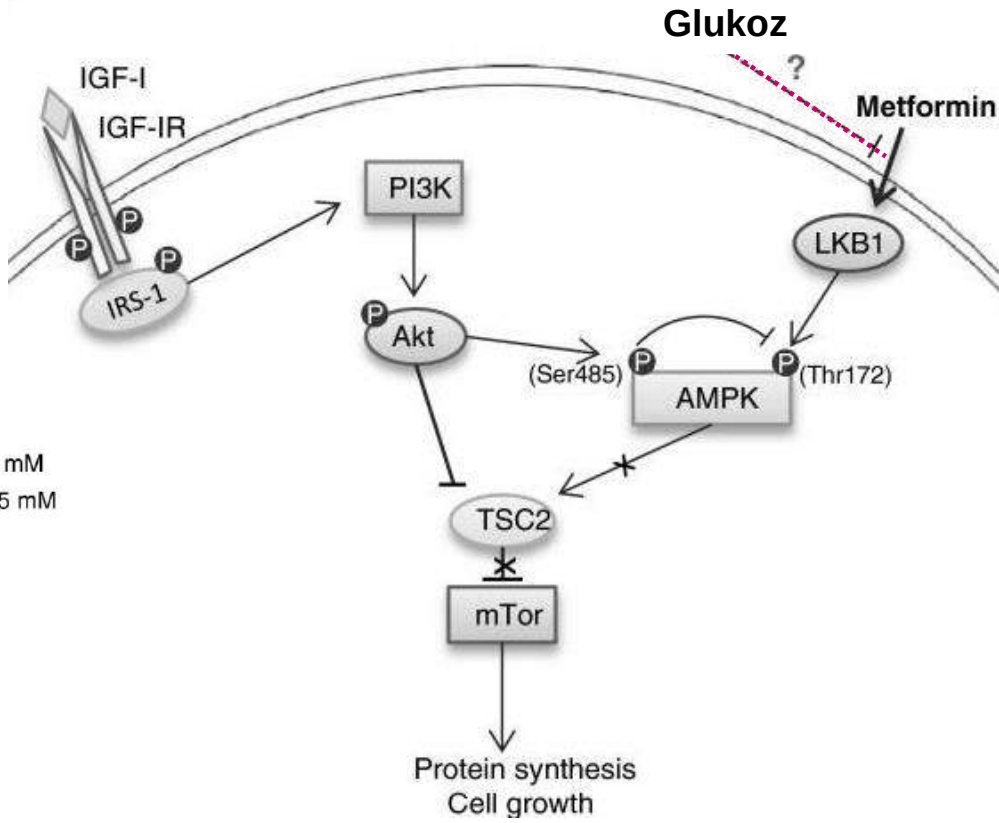


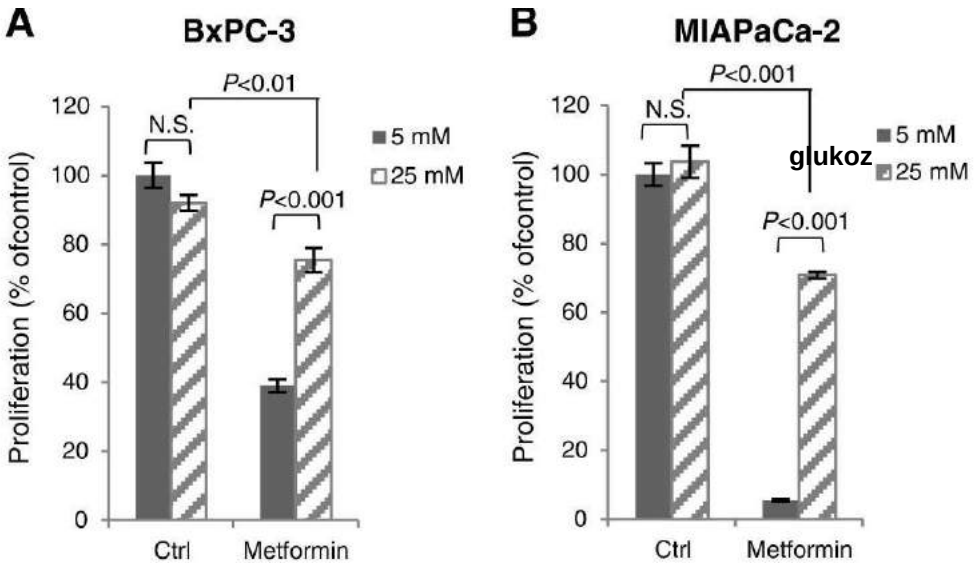
Karnevi E, et al. BMC Cancer. 2013;13:235

Rozengurt EClin Cancer Res. 2010;16(9):2505–11.

İnsulin/IGF-I cevabı artmakta → AMPK aktivasyonunda sorun→ Metformin pankreas kanser hücrelerinde büyüme sinyallerini tam bloke edemez

HİPERGLİSEMİ

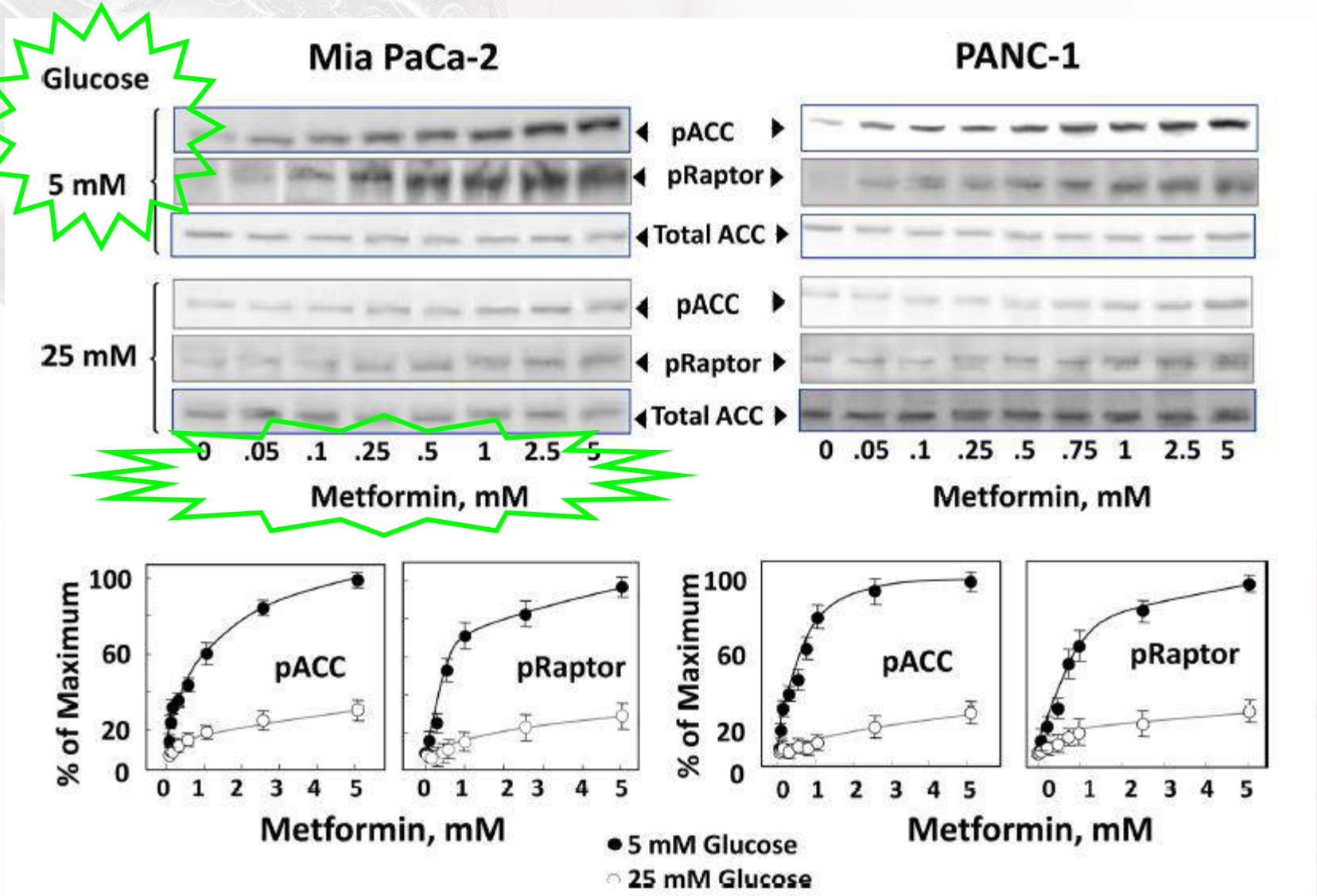




Karnevi E, et al. BMC Cancer. 2013;13:235

Rozengurt EClin Cancer Res. 2010;16(9):2505–11.

Pankreas kanser hücrelerinde metformine bağlı AMPK aktivasyonu fizyolojik glukoz varlığında artmıştır



Sinnett-Smith et al. Biochem Biophys Res Commun. 2013

Metformin dozunun etkileri
Ortamdaki glukoz konsantrasyonun etkileri

in vitro;

- **Metformine bağlı mTOR inhibisyonu fizyolojik glukoz konsantrasyonlarında suprafizyolojik düzeylere göre ↑**
  - **Hiperglisemi→ IGF-IR yolağının stimülasyonu →inhibitör AMPKSer485 fosforilasyonuna neden olur → AMPKThr172 aktivasyonunu inhibe eder**
- **Metformin → Doza bağlı mTOR inhibisyonu**
- **Metforminin çok düşük dozları da etkili:**

(0.05 mM)

Sinnett-Smith et al. Biochem Biophys Res Commun. 2013

P53 aktivasyonu

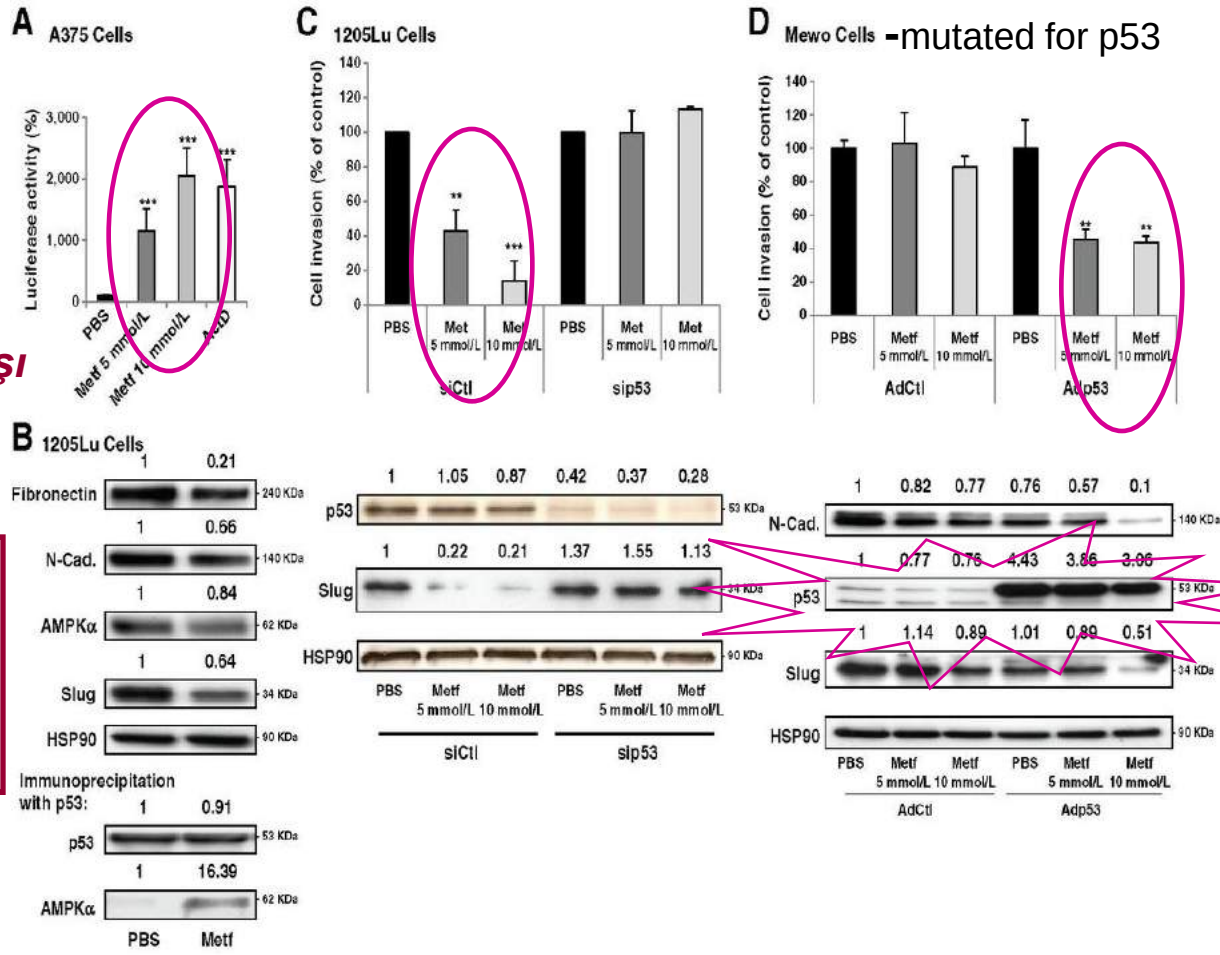
Metformin tümör supresör p53'ü aktive etmektedir

Metforminin anti-melanom etkileri

5 ve 10 mmol/L metformin

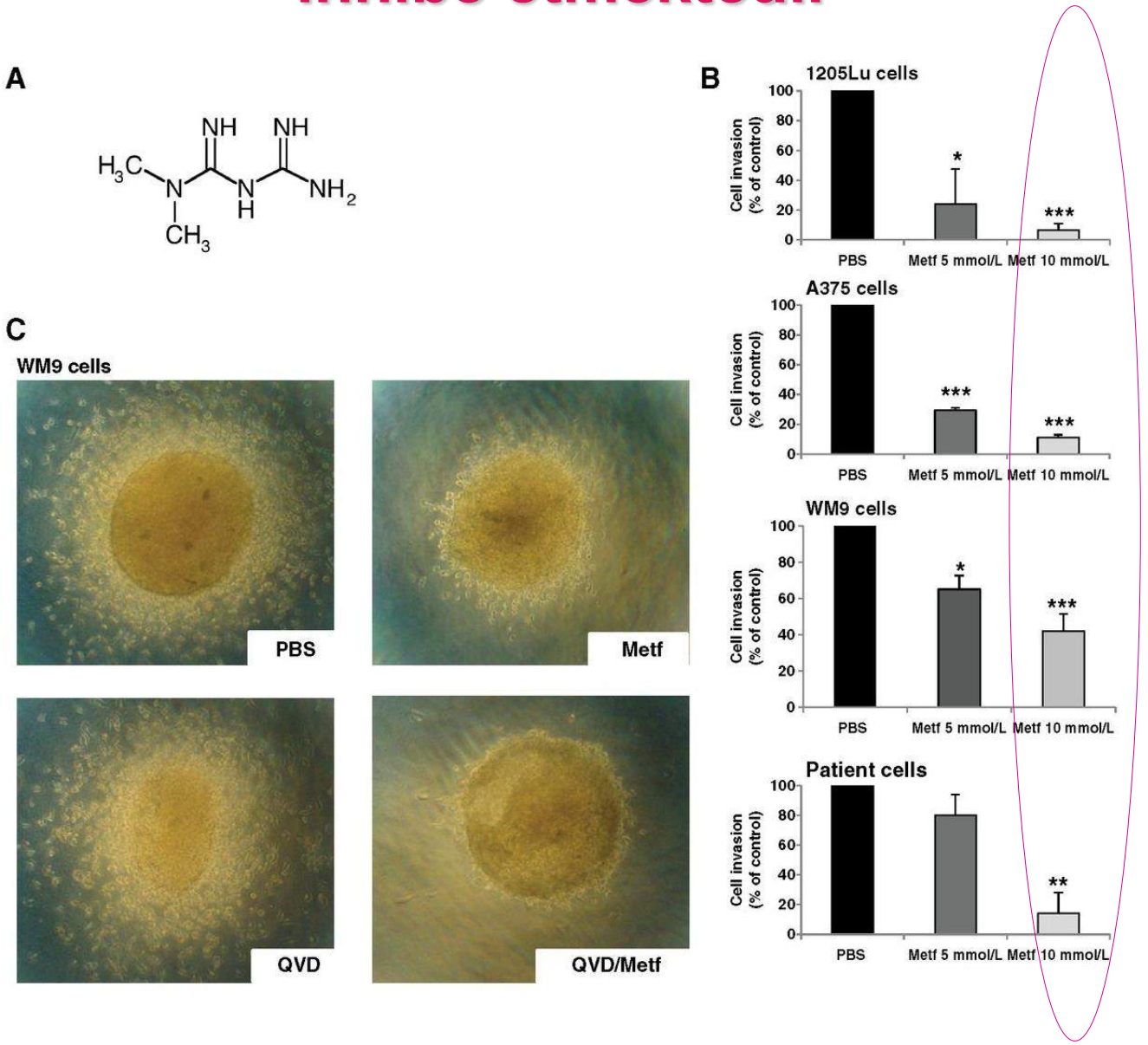
10-20 X p53 promoter aktivite artışı

- AMPK bağımlı veya bağımsız p53 aktivasyonu:
- Otofaji
- Hücresel yaşlanma



Michaël Cerezo et al. Mol Cancer Ther 2013

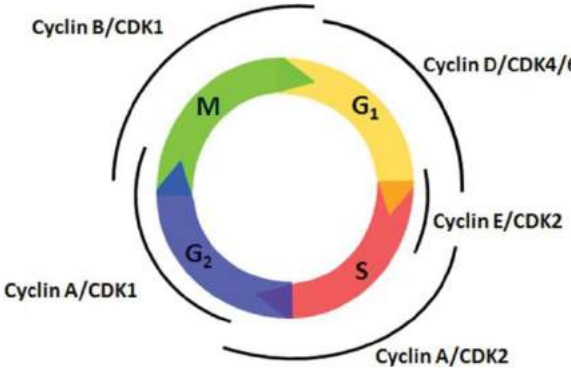
Metformin melanom invazyonunu p53 aracılığıyla inhibe etmektedir



Michaël Cerezo et al. Mol Cancer Ther 2013

Hücre siklus arresti
Apoptozis

Hücre siklus arresti
Apoptozis



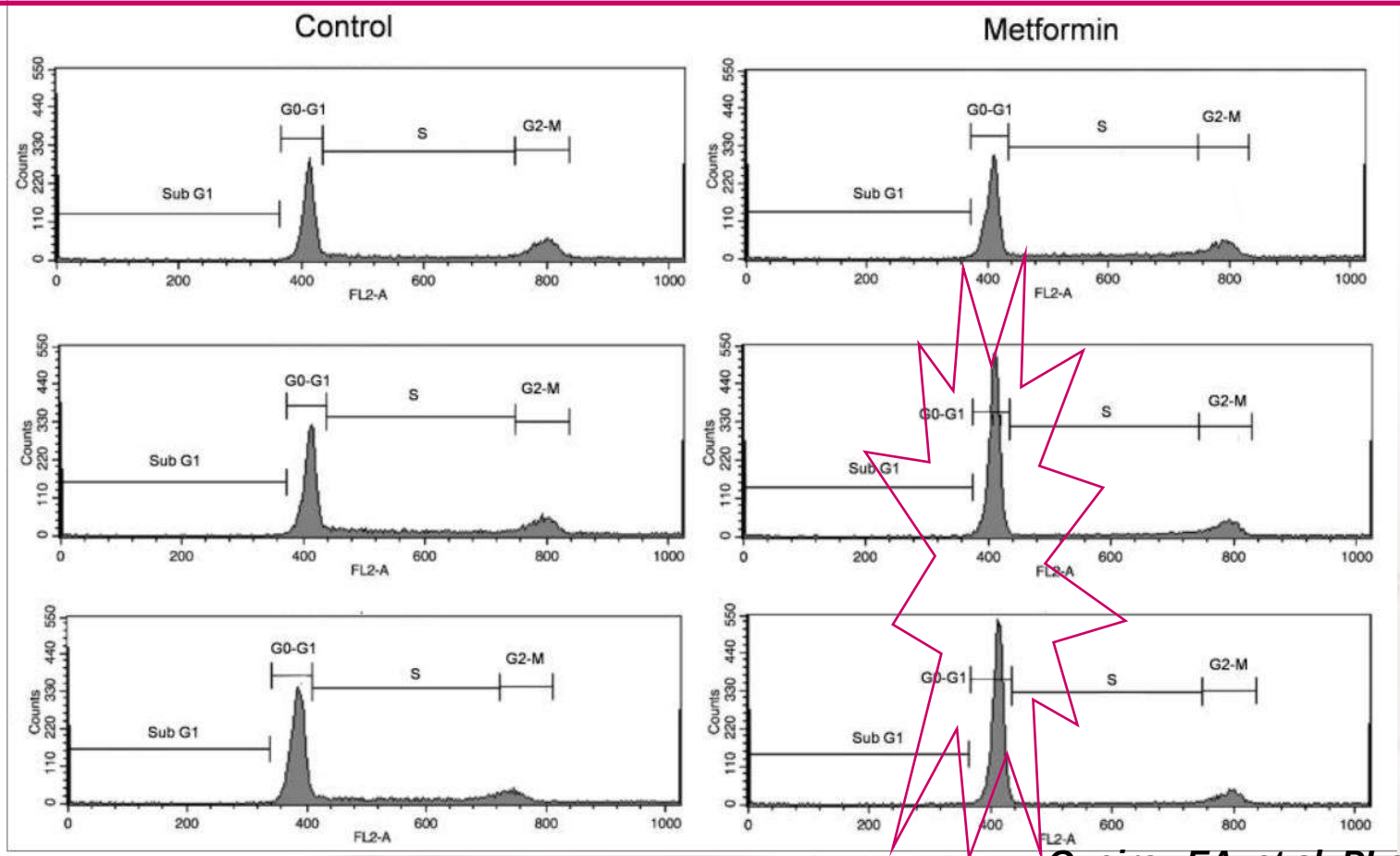
- **Metformin;**
  - **G0-G1 fazda hücre siklus arresti↑**
  - **apoptotik hücre sayısı (sub-G_1 faz)↑**
  - **hücre nekrozu↑**
- **FOXO3a (tümör supresyonu sağlayan transkripsiyon faktörü) ile ilişkili hücre apoptozisi ↑**
- **Metformin → p27, Bax, Bcl-2 ve cleaved caspase-3 ↑ → hücre apoptozisi göstergeleri**
- **Oksidatif stres (ROS↑) aracılı antiproliferatif etkisi +**

Queiroz EA, et al. PLoS ONE. 2014

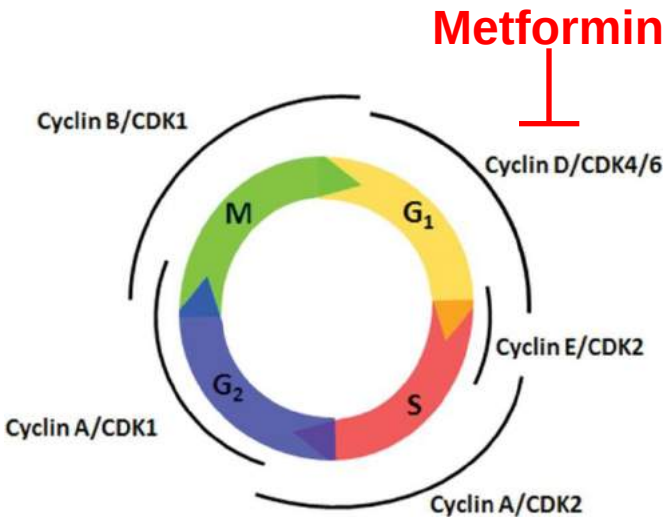
Metformin G0-G1 fazda hücre siklus arrestini, apoptotik hücre sayısını (sub-G_1 faz) indüklemektedir

- Meme kanser hücreleri
- 10 mM metformin; 24, 48, 72. saat
- Sub G1 (→x2), $G_0 – G_1$ (%43→ 69), S %18 →3), ve G2-M faz analizi

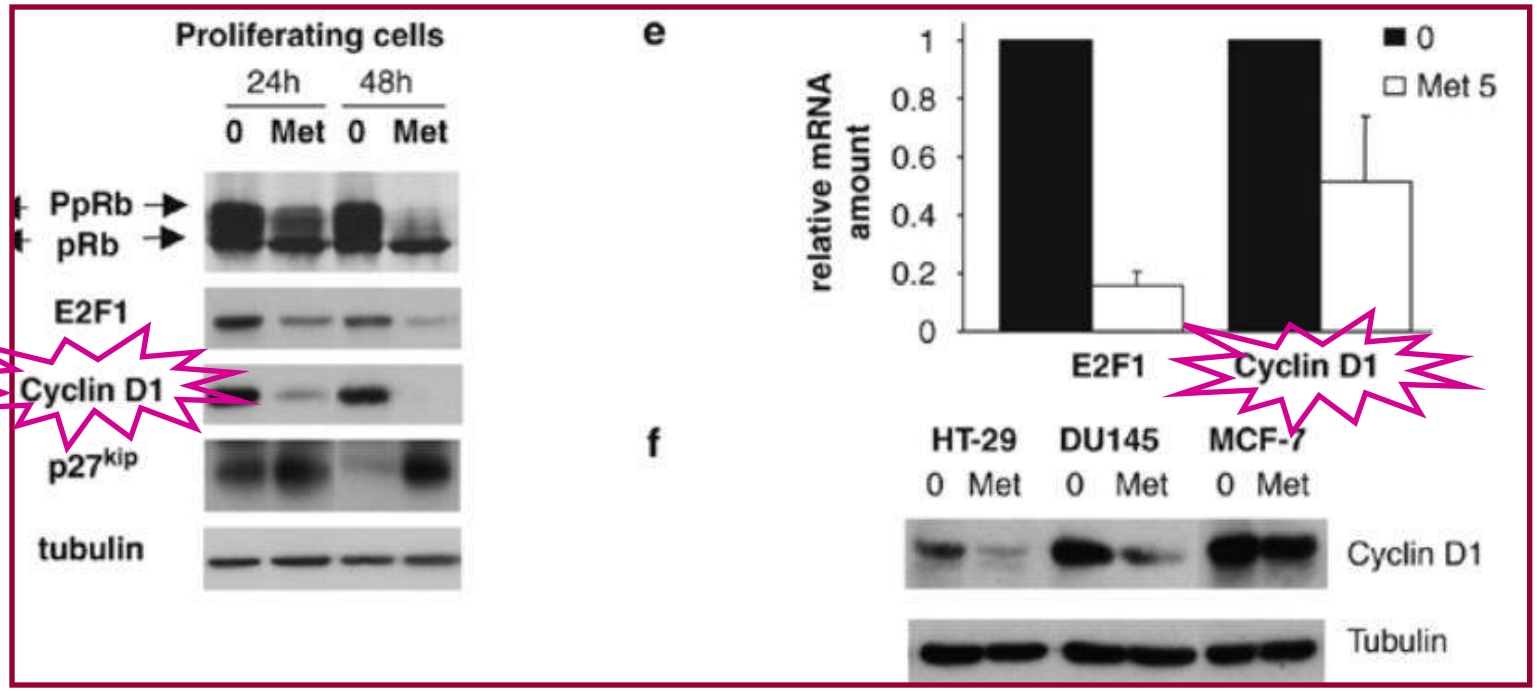
flow cytometry



Queiroz EA, et al. PLoS ONE. 2014



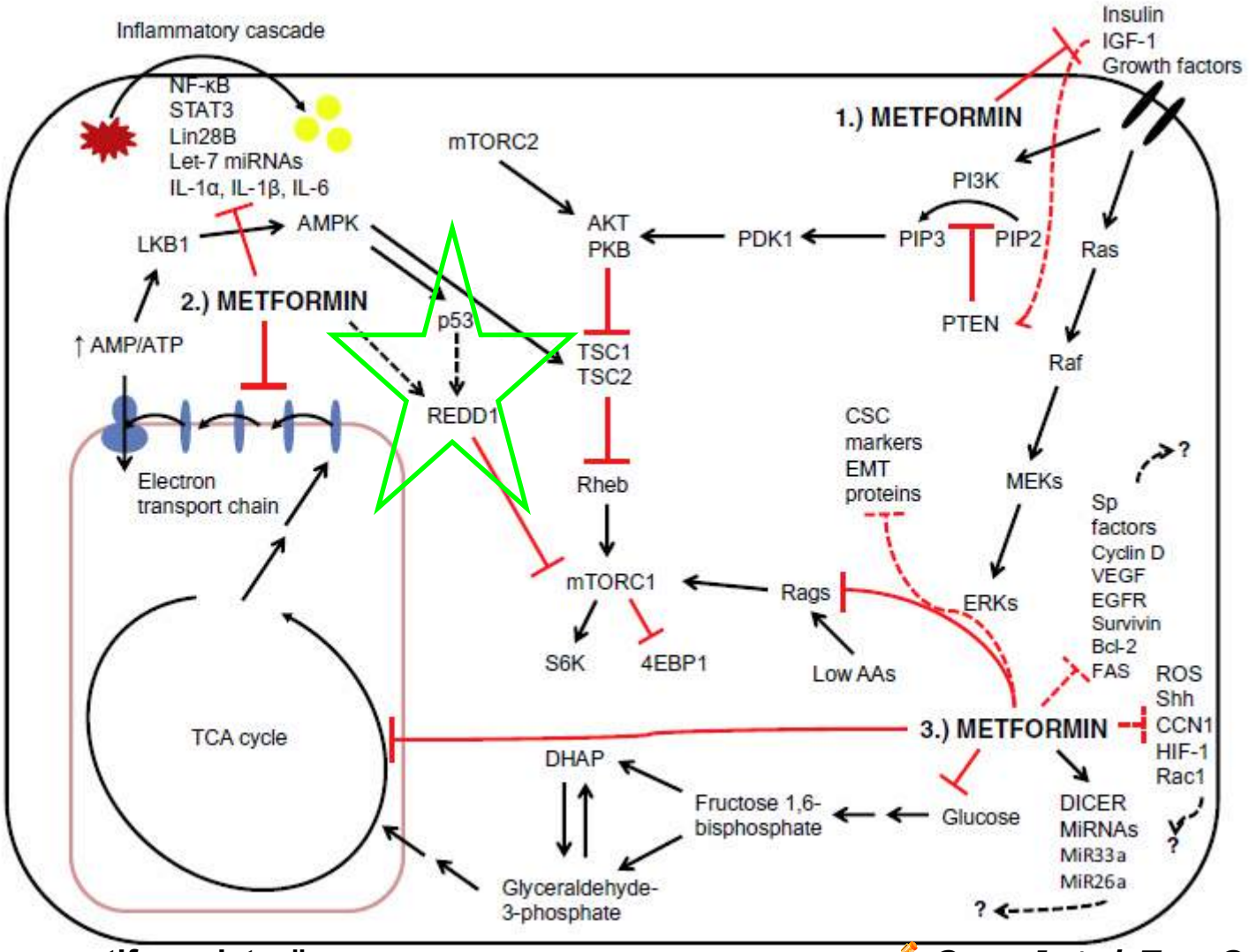
Metformin AMPKdan bağımsız cyclin D1'i inhibe ederek insan prostat hücre hattında proliferasyonu %50 azaltır (G0/G1 blokajı ile)



5 mM

Ben Sahra I et al, Oncogene, 2008

Metformin → REDD1'İ arttırarak AMPK'dan bağımsız mTOR complex 1 inhibisyonu (p53 bağımlı)



REDD1= mTORun negatif regulatorü

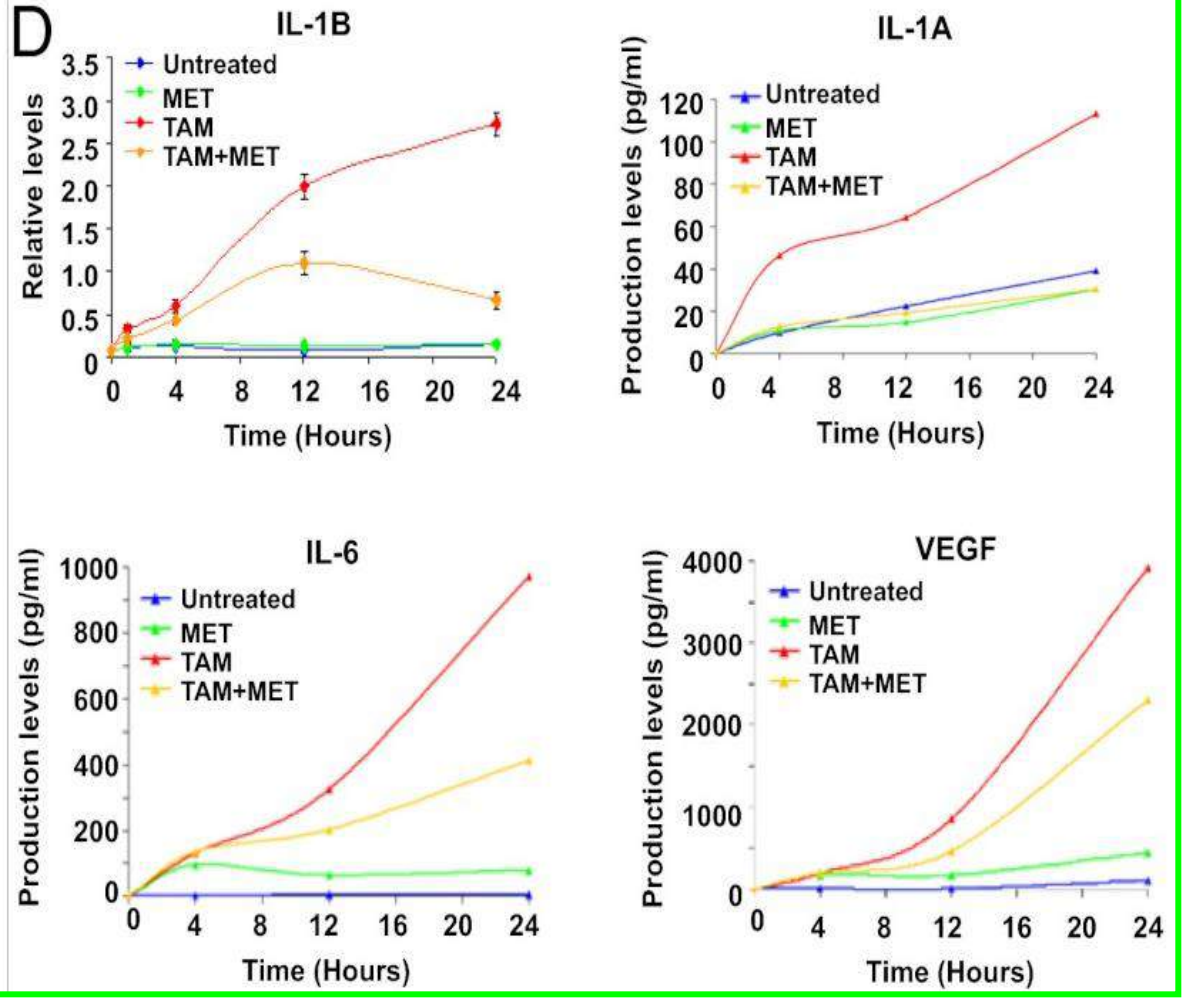
Gong J et al, Targ Oncol, 2016

Anti-inflamatuvar etkiler:

Hücresel transformasyonun engellenmesi

Metformin hücresel transformasyon sırasında gelişen anti-inflamatuvar cevabı engeller

Meme kanser hücreleri



Metformin ± tamoxifen kullanılan hücrelerde IL1β, IL1α, IL6 ve VEGF düzeyleri (ELİSA)

- **Vasküler inflamatuvar mediatörler ↓**
- **AMPK-mTOR bağımlı**

VEGF↓ HIF-1↓ PAI-1↓

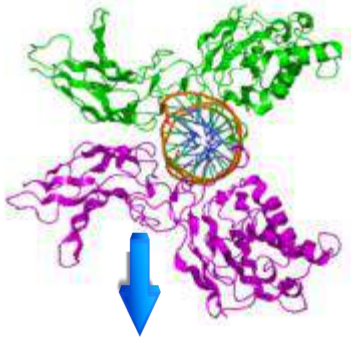
Anti-anjiyojenik etki

Hirsch HA, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2013

Metforminin Anti-inflamatuvar etkileri
Kanser kök hücre dediferansiyonunu engeller

- **AMPK'ya bağlı inaktivasyon:**
  - **NF-κB**
  - **STAT3** (signal transducer and activator of transcription 3)
  - **HIF-1α** (hypoxia induced factor)
- **Pro-inflamatuvar sitokin inhibisyonu:**
  - **TNF-α**
  - **IL-6, IL-8**
  - **VEGF**
- **İmmün-modülatuvar etkileri**
  - **CD8+ tümör infiltre eden hücreler↑**
  - **Memory CD8T hücr ↑**
  - **İmmünosüpresif regl T hücr ↑**

NF-κB



Proliferasyon
Anjiojenez
Adhezyon/invazyon/ metastaz
İnflamasyon
Hücre sürvisi

Hirsch HA, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2013
Yu DH et al, Nat. Rev. Cancer 2009
Eikawa S et al, PNAS, 2015

Kanser kök hücreleri üzerine etkileri

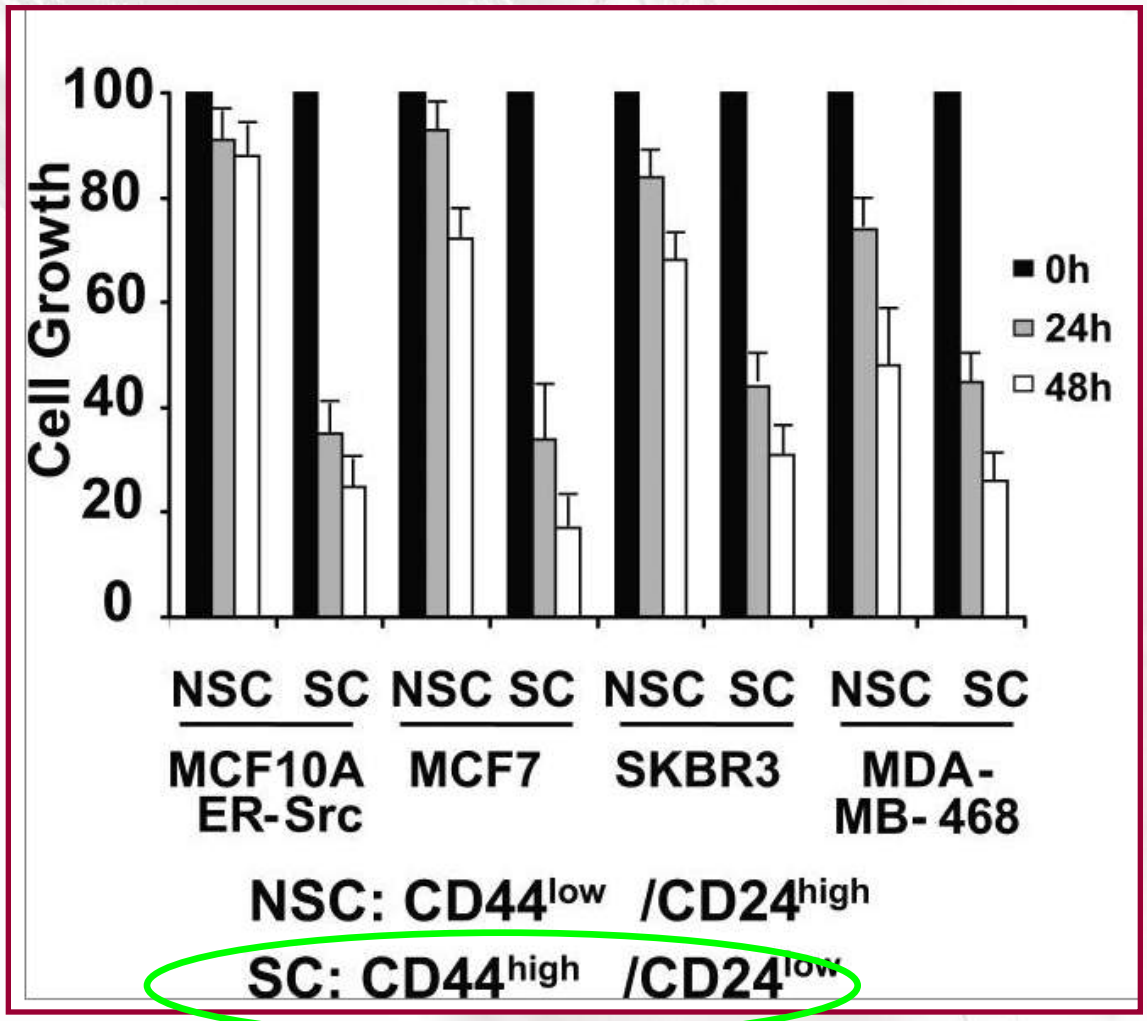
Kanser kök hücreleri (CSC)

- CSC= Kanser başlatan hücreler
- DNA yapımı hızlı, anti-apoptotik, kendini yenileyen hücr
- Kemo- ve radyo-rezistan hücreler
- Rezistan metastatik hastalıkla ilişkili

- İlk kez 2009'da metforminin doğrudan CSC hedefleyerek tümör gelişimini engellediği gösterilmiştir
- CSC mitokondrial fonksiyona bağımlı → metforminin mitokondrial complex 1 inhibisyonu etkilemekte
- Metformin → Warburg etkisinin engellenmesi (oksidatif fosforilasyon-->glikoliz)

Hirsch HA et al. Cancer Res. 2009
Del Barco S, et al. Oncotarget. 2011

Metformin 4 farklı genetikteki meme kanser hücrelerinde hücresel transformasyonu engellemektedir

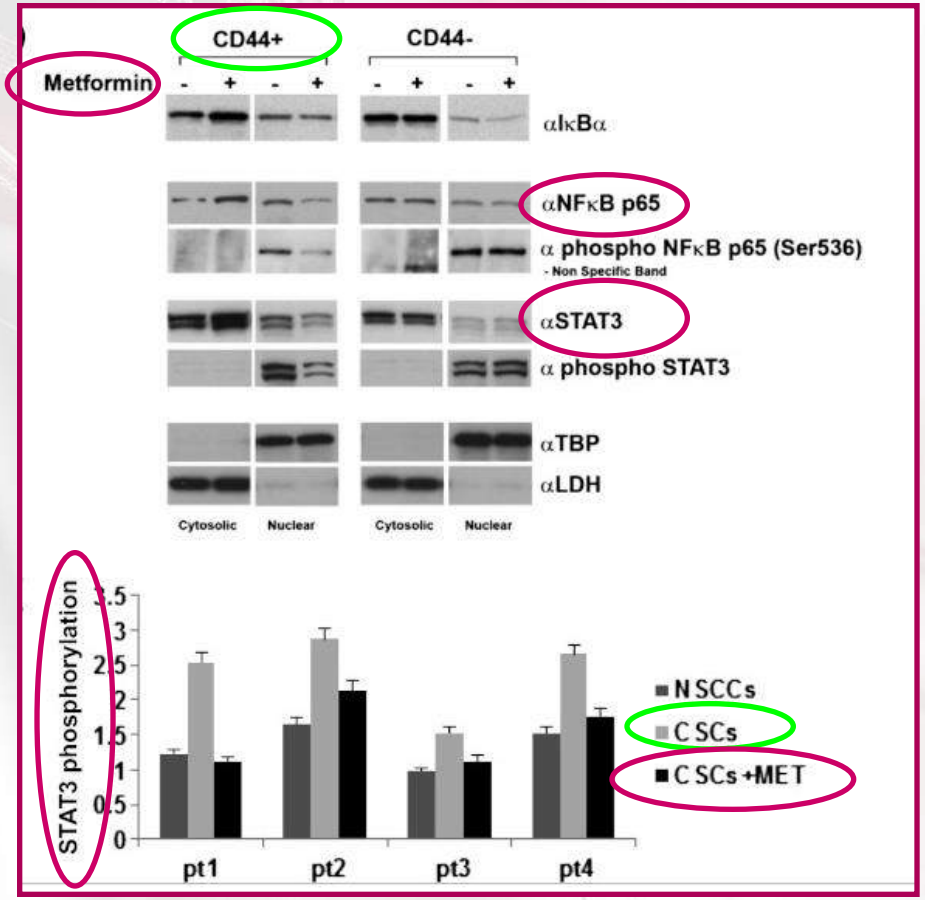


- Meme kanseri hücreleri
- Farede MCF10A-ER-Src CSC enjeksiyonu
- Enjeksiyondan 1 saat önce 0.1 mM metformin ile tedavi
- CSC inhibisyonu

Hirsch HA et al. Cancer Res. 2009

Metformin, Kanser Kök Hücrelerinde İnflamatuvar cevabı inhibe etmektedir

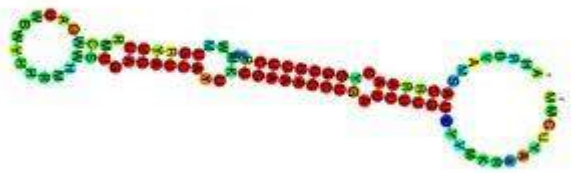
4 farklı genetikteki meme kanser hücreleri
CD44+ Kanser kök hücreleri



NF-κB ↓
STAT3 ↓

Signal transducer and activator of transcription 3

Hirsch HA, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2013



MikroRNA modülasyonu

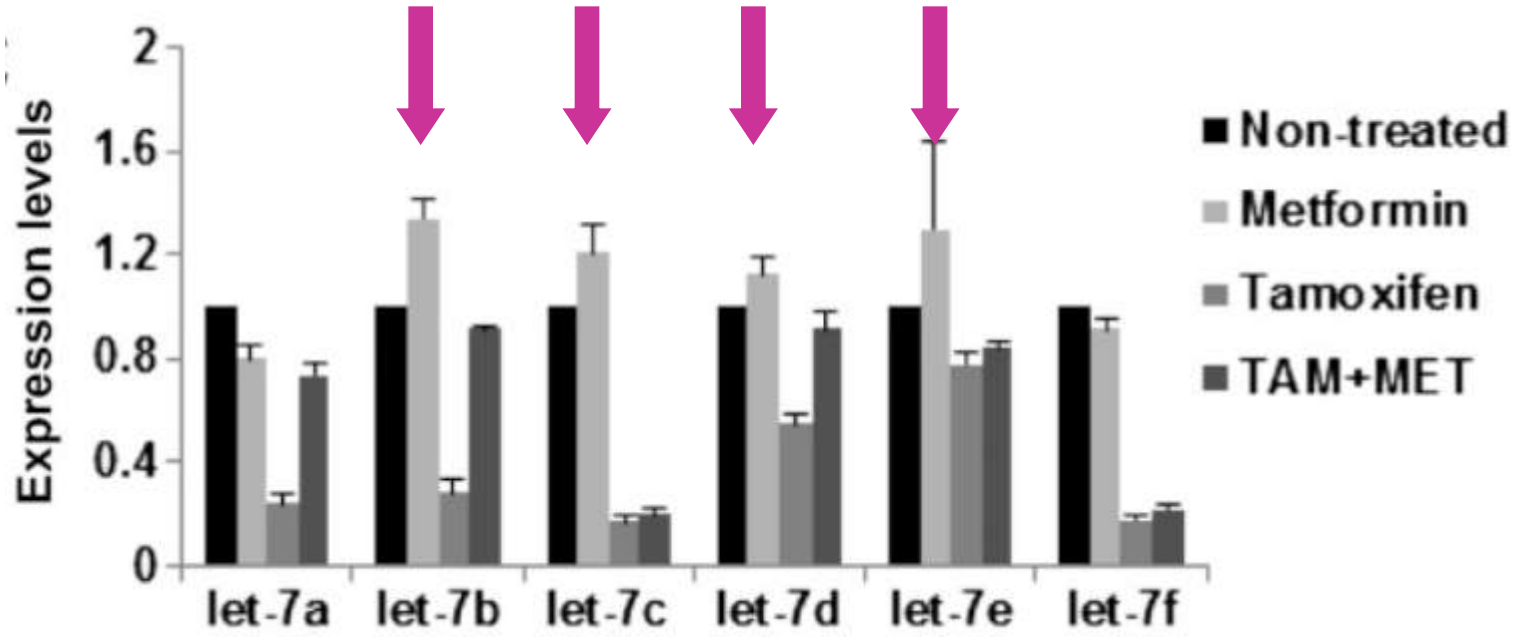
MikroRNA

- Küçük kodlama yapmayan RNA'lar (20-25 nükleotid)
- Post-transkripsiyonel gen ekspresyonunu düzenler
- Hedef mRNA'lara bağlanarak
  - hücre proliferasyonu,
  - diferansiasyon,
  - apoptozis,
  - stres cevap ve
  - anjiogenezi düzenler
- Onkogen veya tümör supresor gen olarak davranır
- Kanserde mikroRNA ekspresyonu regülasyon bozuklukları+

Pulito et al Ann Transl Med 2014

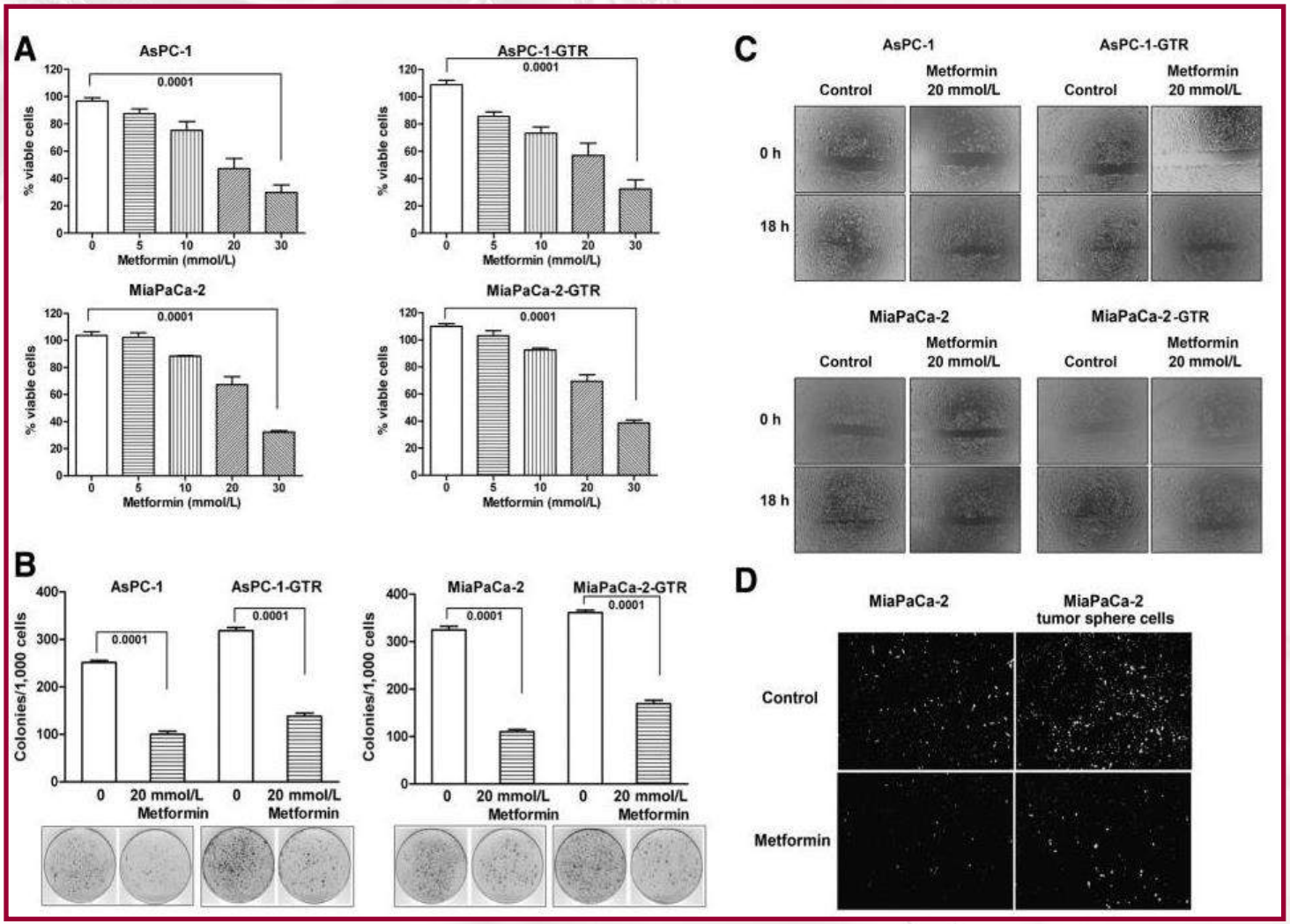
Metformin Let-7 miRNA ailesinden çoğunun down-regülasyonunu engellemektedir

Meme kanseri hücreleri



Hirsch HA, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2013

Metformin, pankreatik kanser hücrelerinde CSC fonksiyonunu miRNA regülasyonunu etkileyerek inhibe eder →Hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyon inhibisyonu

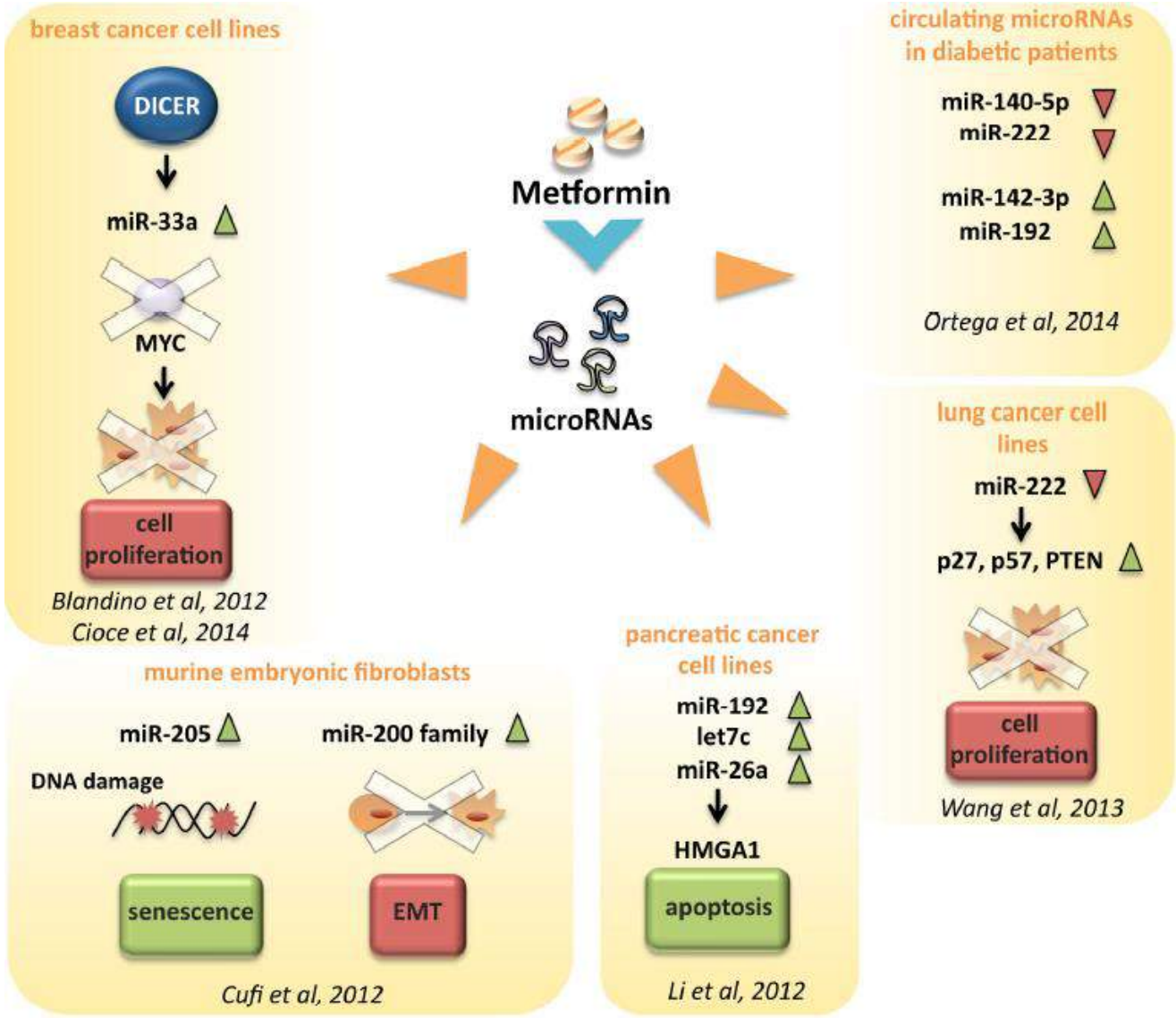


Metformin,

A-Hücre sürvisi↓
B-Klonlaşma ↓
C- Yara iyileşmesi ↓
D- İnvazyonu ↓ inhibe eder

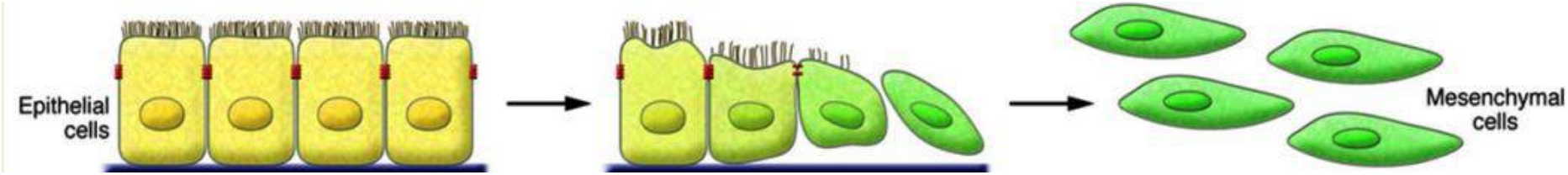
Bao B et al, Cancer Prev Res (Phila). 2012

Metforminin mikroRNA modülasyonu



Pulito et al, Ann Transl Med, 2014

Epitelden mezenkimale tranzisyon üzerine etkiler



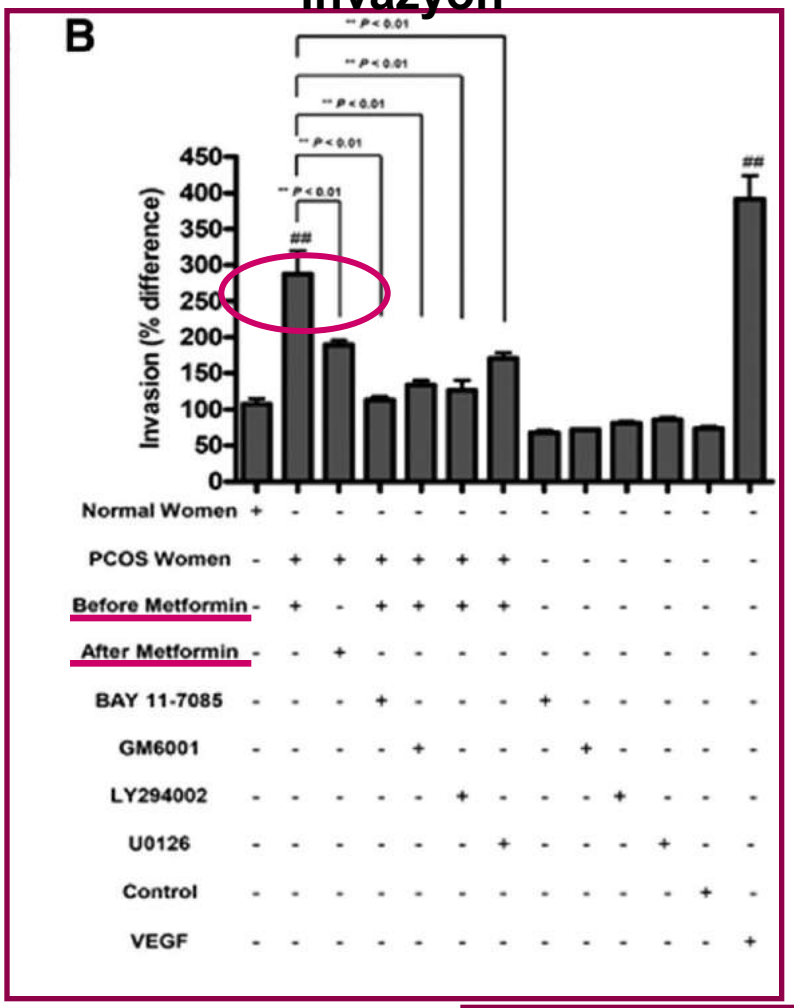
Epitelden mezenkimale tranzisyon

- Metastaz oluşumunda epitelden mezankimale tranzisyonun rolü önemli
- Diferansiye tümör hücresi motil mezenkimal hücreye dönüşmektedir
- Mezenkimal hücrelerin sürvi ve migrasyon avantajları vardır
- Metformin, mTOR sinyal blokajı, transforming growth factor-β, IL-6, NF-κB, MMP-2/9, Akt ve Erk1/2 yolaklarının inhibisyonu ile bu tranzisyonu inhibe etmektedir

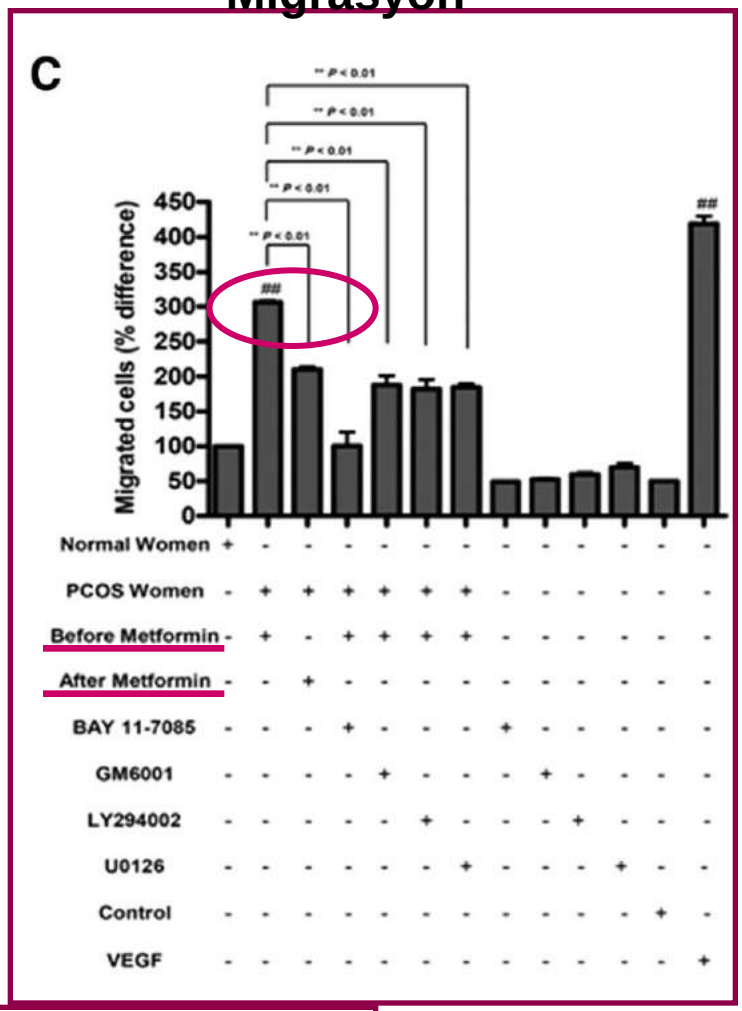
Samy Lamouille et al. J Cell Sci 2012
Jing Yang, Robert A. Weinberg, Developmental Cell 2008
Rattan R et al, J Oncol, 2012
Tan BK et al, J Clin Endocrinol Metab. 2011

Metformin tedavisi insan endometrial karsinom hücrelerinde invazyon ve metastazı engellemektedir

İnvazyon



Migrasyon

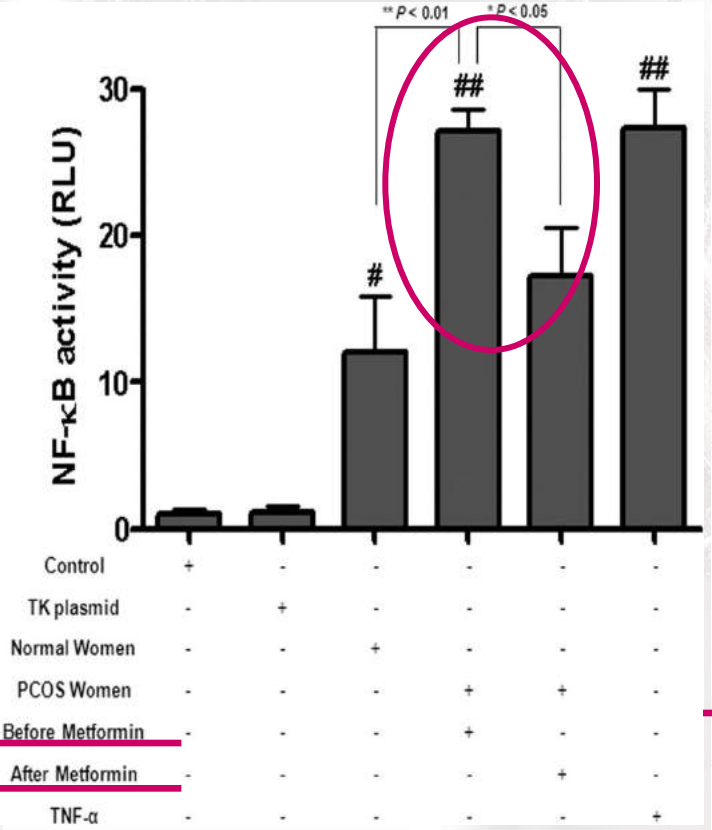


- *in vitro*
- 6 ay metformin 2x850 mg, n= 21

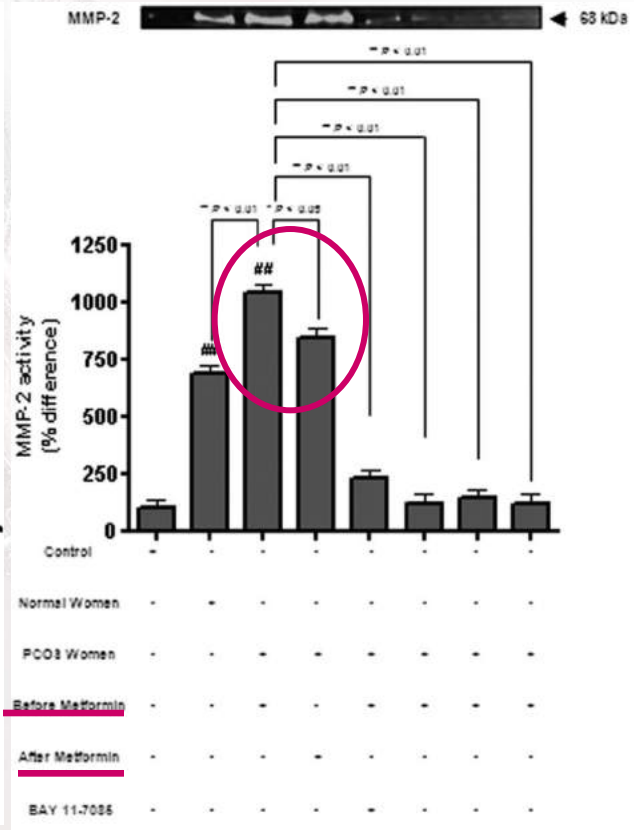
Tan BK et al, J Clin Endocrinol Metab. 2011

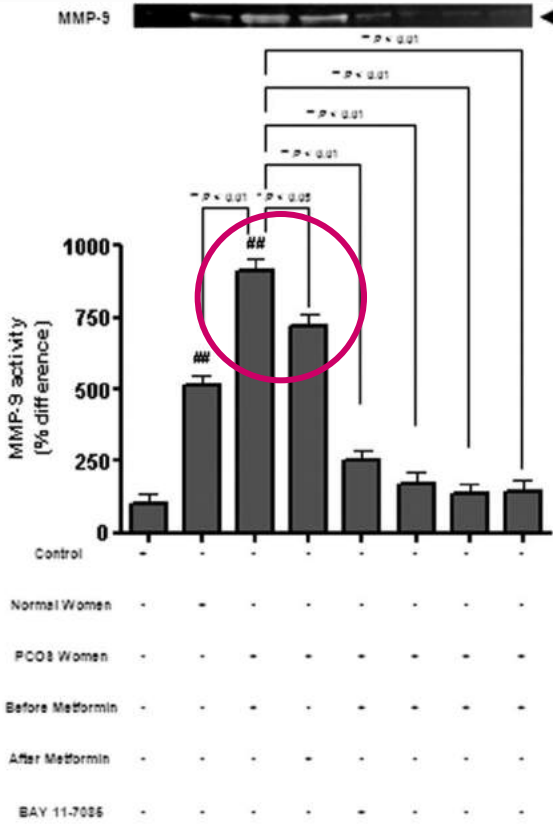
Metformin NF-κB, MMP-2 ve MMP-9'u inhibe ederek invazyon ve metastazı engellemektedir

NF-κB



Matrix Metalloproteinler

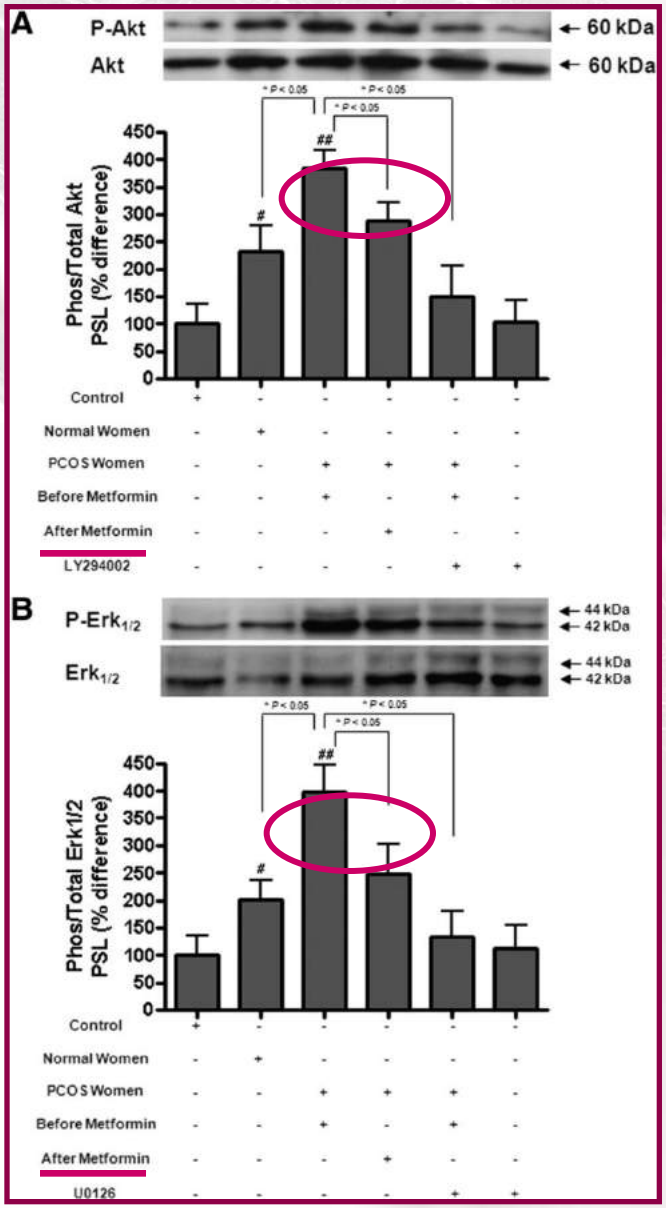




- *in vitro*
- 6 ay metformin 2x850 mg, n= 21

Tan BK et al. J Clin Endocrinol Metab. 2011

Metformin AKT, ERK yolaklarını inhibe ederek invazyon ve metastazı engellemektedir



Extracellular signal-regulated kinases (Erk1/2)

v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1 (Akt)

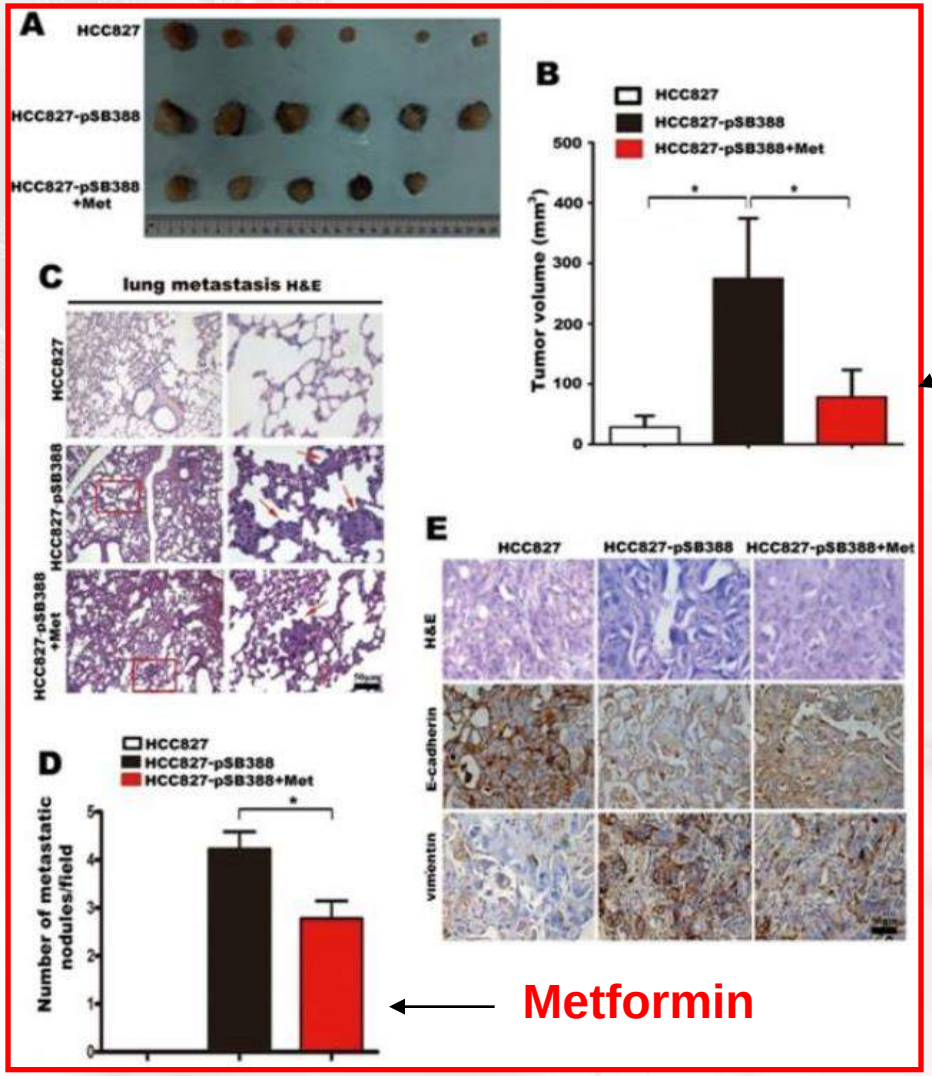
- ***in vitro***
- **6 ay metformin 2x850 mg, n= 21**

Tan BK et al, J Clin Endocrinol Metab. 2011

Metformin IL-6'ya bağlı akciğer adenokarsinom büyümesini, epitelden mezenkimale tranzisyonu ve metastazı inhibe etmektedir

Xenograftlar

Metformin

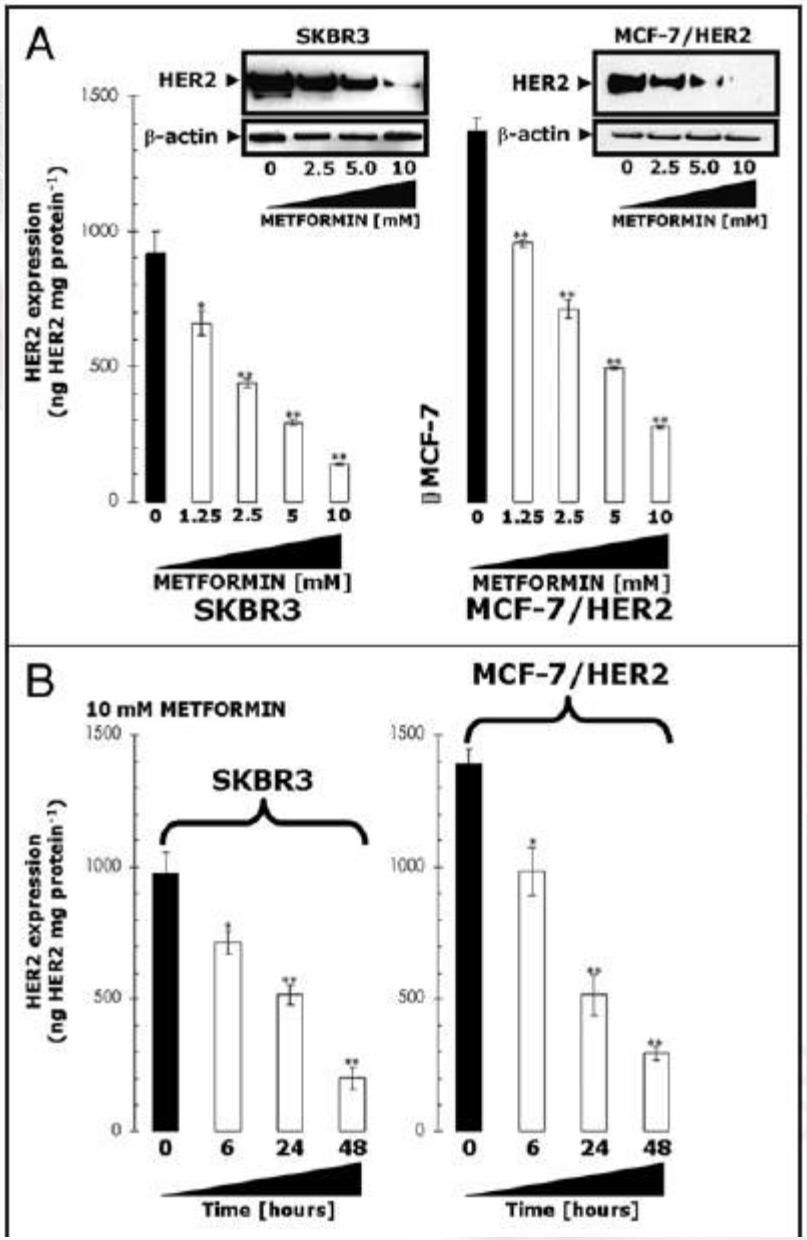


Metformin

Metformin

Zhao Z et al, PLoS One. 2014

Metformin, meme kanseri hücresinde HER2 onkoproteini doz ve zamana bağlı olarak %85'e kadar inhibe etmektedir



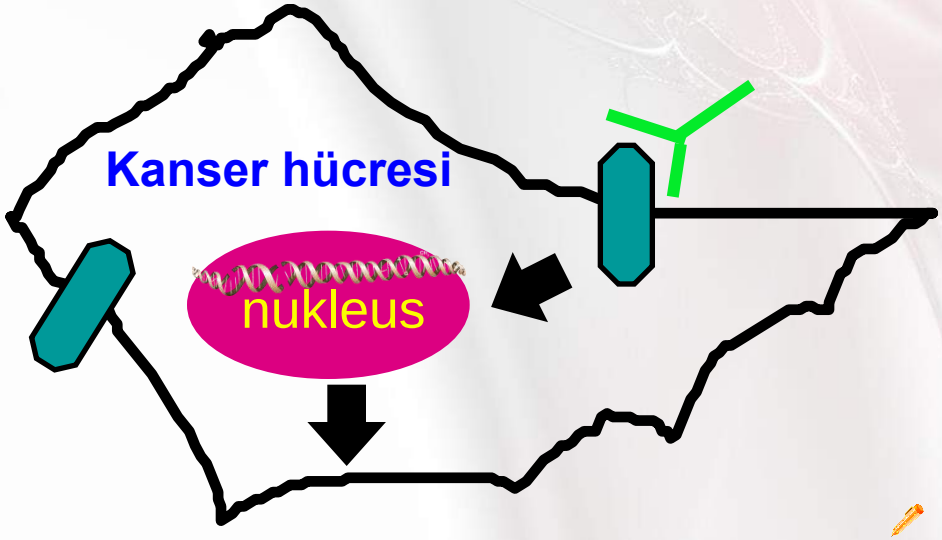
10 mM metformin for 0, 6, 24 and 48 hours

- HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) pozitif meme kanser hücreleri
- Metformine bağlı HER2 overekspresyonu supresyonu direkt p70S6K1 (mTOR indükleyici) aktivitesinin inhibisyonuna bağlıdır (AMPK-bağımsız)

Vazquez-Martin A, et al. Cell Cycle. 2009

Kanser hücresi sensitivitesi

- Metformin kanser hücrelerinin kemotöropetik ajanlara hassasiyetini ↑
  - Cisplatin, Doxorubicin, Paclitaxel
- Meme, over,
- akciğer,pankreas, prostat ca



- Kanser hücrelerinin radyo-sensitivitesini↑ (AMPK-bağımlı)→
  - akciğer,
  - prostat,
  - Kolon ca,
  - fibrosarkom

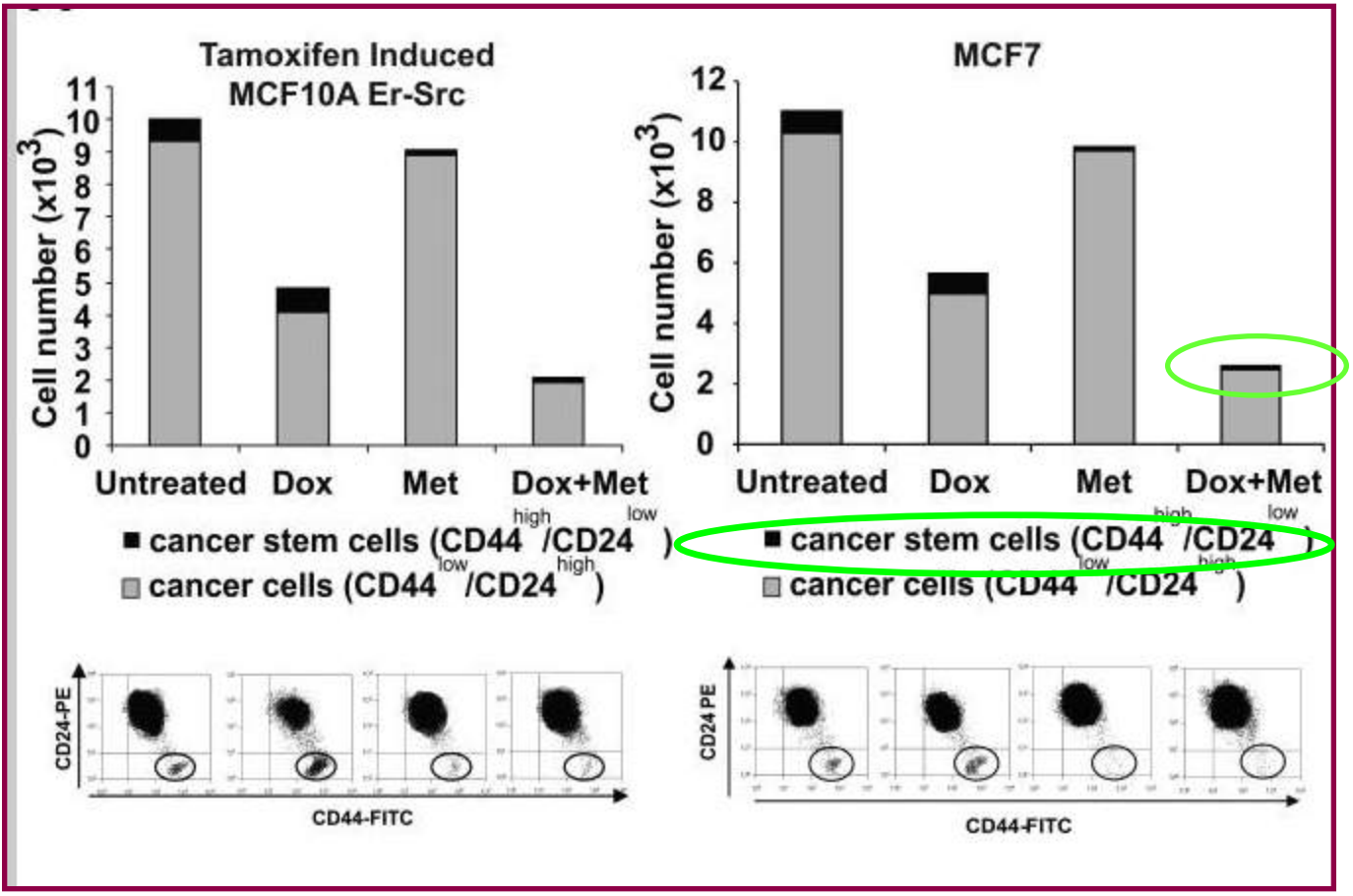
Gotlieb WH, et al. Gynecol Oncol 2008
Hirsch HA et al. Cancer Res. 2009
Hanna RK, et al. Gynecol Oncol 2012
Storozhuk Y, et al. Br J Cancer. 2013
Nur Atiqah Binte Samsuri, Cancer Treat Rev, 2017

Metformin+doxorubicin kombinasyonu

Metformin CD44+/CD24- kanser kök hücrelerini inhibe etmekte

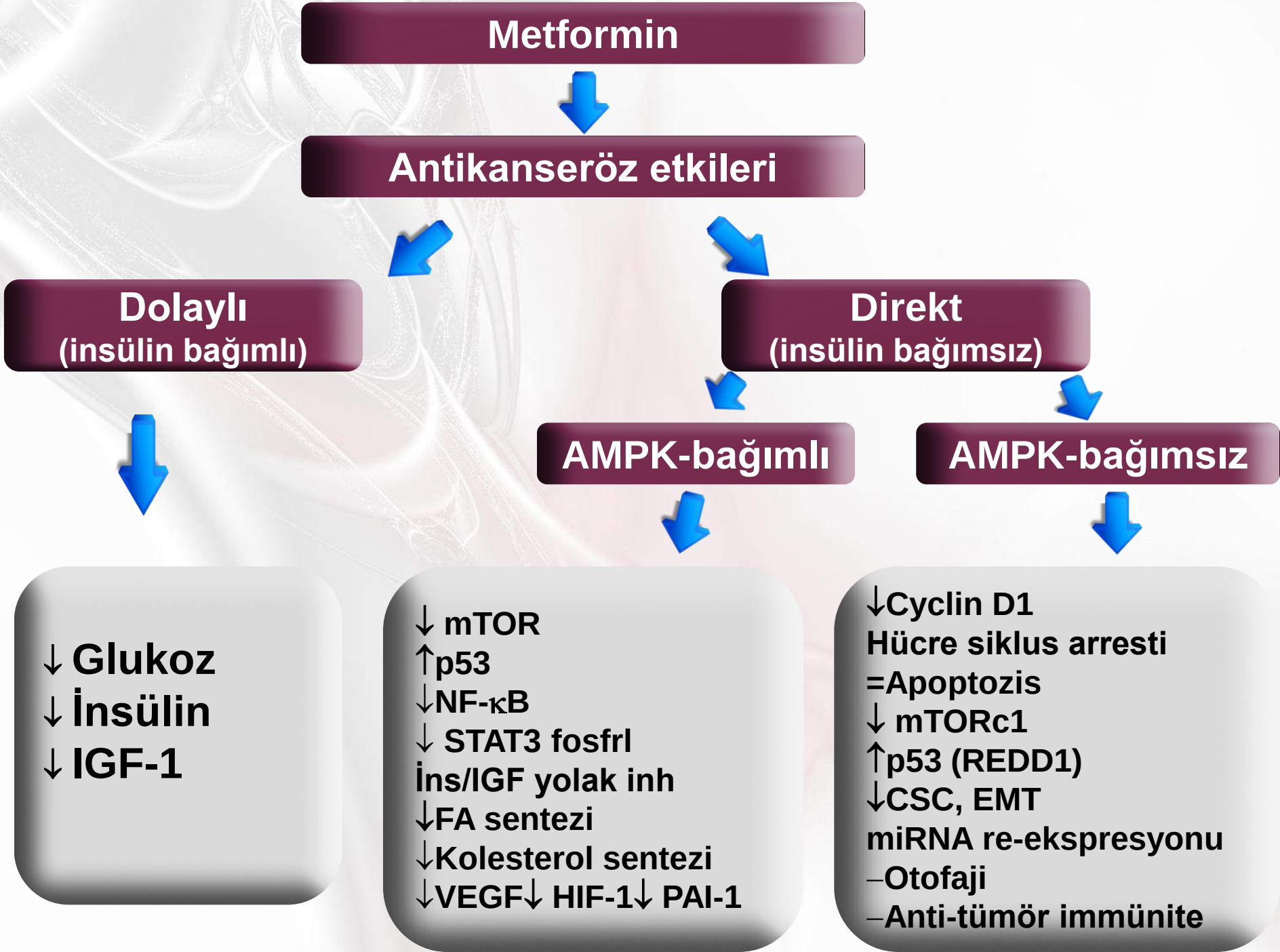
Doxorubinin sitotoksik etkisi↑

Tümör remisyon süresi ↑, kemoterapi dozu ↓



- Xenograft fare çalışması
- Meme kanseri
- Birlikte kullanım tek kullanıma göre daha fazla tümör kitlesinde küçülme ve relapsı engelleyici etkiyi sağlar

Hirsch HA et al. Cancer Res. 2009

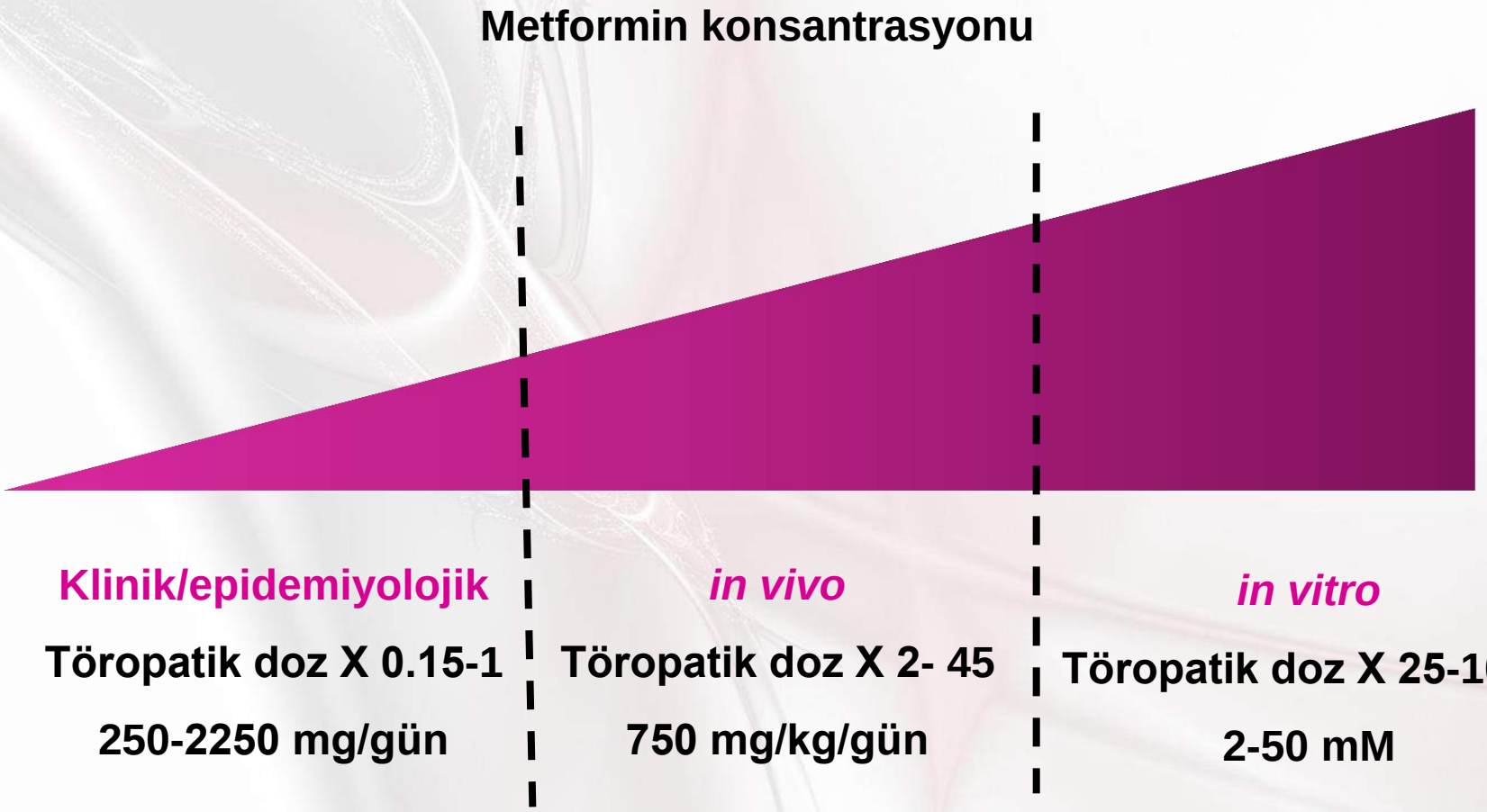

Metformin
Antikanseröz etkileri
Dolaylı
(insülin bağımlı)
Direkt
(insülin bağımsız)
AMPK-bağımlı
AMPK-bağımsız
↓Glukoz
↓İnsülin
↓IGF-1
↓ mTOR
↑p53
↓NF-κB
↓ STAT3 fosfrl
İns/IGF yolak inh
↓FA sentezi
↓Kolesterol sentezi
↓VEGF↓ HIF-1↓ PAI-1
↓Cyclin D1
Hücre siklus arresti
=Apoptozis
↓ mTORc1
↑p53 (REDD1)
↓CSC, EMT
miRNA re-ekspresyonu
–Otofaji
–Anti-tümör immünite

Neden tüm çalışmalarda metforminin antikanserojen etkisi gözlenmiyor

- Tümör tipi, klinik evre
- Çalışmadaki hasta sayısı
- Hasta ilişkili faktörler
  - İnsülin rezistansı, T2DM varlığı ve süresi
  - Yaş, cinsiyet
- Retrospektif çalışma olması
- Hasta takip süresi, zaman ile ilişkili biaslar
- Hastadaki genetik mutasyonlar (p53 mutasyonu)

Coperchini E et al, J Endocrinol Invest, 2015

Klinik ve preklinik çalışmalarda kullanılan metformin konsantrasyonları



Ryan J O Dowling et al. J Mol Endocrinol, 2012


Teşekkürler