

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202311006



铜死亡在肿瘤治疗方面的研究进展

宋一博, 郑才仕, 周树锋

(华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 过量的铜可以导致肿瘤细胞发生程序性细胞死亡(PCD),即铜死亡。这一过程是通过破坏肿瘤细胞代谢和诱导蛋白质毒性应激发生的,这一发现强调了铜稳态和肿瘤代谢之间的复杂联系。综述细胞铜代谢和铜死亡的具体机制,阐述铜基纳米材料在肿瘤治疗中的应用。结果表明:铜死亡途径为肿瘤治疗开辟了新视角,具有广阔的应用前景。

关键词: 铜代谢; 铜稳态; 铜死亡; 肿瘤治疗

中图分类号: R 730.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2023)06-0671-05

Research Progress of Cuproptosis in Tumor Therapy

SONG Yibo, ZHENG Caishi, ZHOU Shufeng

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Excess copper induces programmed cell death (PCD) in tumor cells, known as cuproptosis. This process occurs through disruption of tumor cell metabolism and induction of protein toxicity stress, highlighting the complex interplay between copper homeostasis and tumor metabolism. The specific mechanisms of copper metabolism and cuproptosis in cells are reviewed, and the applications of copper-based nanomaterials in tumor therapy are described. The results show that copper-induced cell death provides a new perspective for tumor therapy and has potential application prospects.

Keywords: copper metabolism; copper homeostasis; cuproptosis; tumor therapy

铜(Cu)是几乎所有生物体的基本元素。大量研究表明,Cu是多种关键代谢酶的辅助因子,这些酶可驱动广泛的生理过程。当铜代谢失衡时,细胞可能会受到严重的损害,因此,全身铜水平变化必须维持在一个很小的范围内,以确保正常的生化过程。2022年,铜诱导的细胞死亡方式被首次命名为铜死亡(cuproptosis)^[1]。基于此,本文针对铜死亡的作用机制及铜基纳米材料在肿瘤铜死亡治疗中的研究进展进行综述。

1 铜的代谢

铜主要通过食物摄入进入人体,如肉类、鱼类、贝类、全谷类、坚果和巧克力都含有丰富的铜。大部分食物中铜主要以二价离子(Cu^{2+})形式存在,主要在小肠被吸收,进入小肠上皮细胞之前, Cu^{2+} 被金属还原酶(six-transmembrane epithelial antigen of the prostate, STEAP)吸附在细胞表面,并被还原为 Cu^+ ,通过小肠上皮细胞的铜转运蛋白1(CTR1,也称为SLC31A1)被主动吸收^[2]。在通过肠道吸收后,铜被分泌到血液中,铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)、白蛋白(albumin)、转铜蛋白(metallothionein)及

收稿日期: 2023-11-06

通信作者: 周树锋(1966-),男,教授,博士,博士生导师,主要从事系统药理学、药物代谢与转运的研究。E-mail: szhou@hqu.edu.cn。

α_2 -微球蛋白(α_2 -macroglobulin)等血浆蛋白结合参与了铜的运输和代谢过程,并帮助将铜运送到身体的各个器官和组织中。

铜一旦被细胞吸收,可以通过不同的蛋白载体转运到蛋白靶点,或者被金属硫蛋白(MT)螯合以储存。关键的蛋白载体主要包括细胞色素 C 氧化酶 17(COX17)、铜超氧化物歧化酶铜伴侣蛋白(CCS)和抗氧化剂 1(ATOX1)。细胞内的铜代谢过程^[3],如图 1 所示。

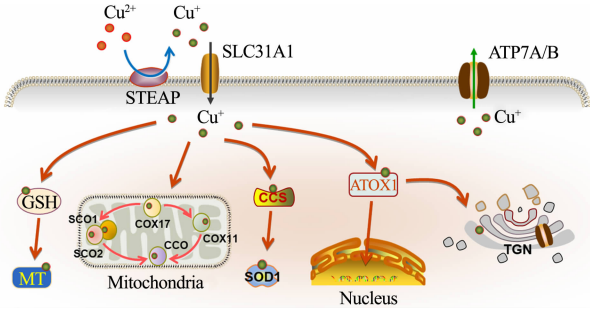


图 1 细胞内的铜代谢过程
Fig. 1 Intracellular copper metabolism process

1) COX17 可将 Cu^+ 转运至次级载铜蛋白,包括合成细胞色素 C 氧化酶 1(SCO1)、合成细胞色素 C 氧化酶 2(SCO2)和细胞色素 C 氧化酶 11(COX11),并将 Cu^+ 传递给细胞色素 C 氧化酶(CCO),CCO 是细胞呼吸链中的关键酶之一,参与将细胞内的化学能转化为细胞需要的能量^[4]的过程。

2) CCS 是另一种 Cu 伴侣蛋白,可以将 Cu^+ 转移给超氧化物歧化酶 1(SOD1)^[5],并帮助 SOD1 正确折叠和激活,维持 SOD1 的活性和稳定性,在细胞内发挥重要的抗氧化作用,从而保护细胞免受自由基的损害。

3) ATOX1 则可以将 Cu^+ 转运到细胞核, Cu^+ 因而与转录因子结合并驱动基因表达^[6]。ATOX1 还可将 Cu^+ 从高尔基体反面的网络结构(TGN)转运到铜转运 ATP 酶(ATP7A 和 ATP7B)。ATP7A 在除了肝脏以外的大多数组织和器官中表达,而 ATP7B 主要在肝脏中表达^[7]。在生理 Cu^+ 水平下,铜转运 ATP 酶定位在 TGN 中,将 Cu^+ 从细胞质转运到 TGN 腔内。当细胞内 Cu^+ 增加时,铜转运 ATP 酶与细胞质膜融合,以外排 Cu^+ 。当 Cu^+ 恢复到生理水平时,这些铜转运蛋白被再次回收到 TGN。

肝脏是调控铜稳态的中央控制器官,主要通过 3 条铜代谢途径:将 Cu^+ 释放到血液中进一步循环、转运到胆汁中排泄或储存在肝细胞中^[8]。在铜摄入量高的情况下,铜的吸收减少,铜的排泄增加;相反,在铜摄入量低的情况下,通过胆汁排泄的内源性铜减少,吸收的铜增加。铜稳态的失衡可能会导致铜过量或缺乏,进而引发一系列与铜代谢相关的疾病,例如威尔逊病(由于铜排泄障碍而导致铜在体内积累)、门克斯(Menkes)病(由于铜吸收障碍而导致铜缺乏)等^[9]。因此,维持适当的铜代谢对于人体健康至关重要。

2 铜死亡的机制

先前研究表明,铜离子载体伊利司莫(Elesclomol,ES)可以诱导细胞死亡^[10]。为验证这种死亡方式是否受已知的细胞死亡方式的影响,Tsvetkov 等^[1]通过对细胞分别进行抑制剂处理,包括细胞凋亡抑制剂(Z-VAD-FMK 和 BOC-D-FMK)^[11-12]、铁死亡抑制剂(ferrostatin-1)^[13]、坏死抑制剂(Necrostatin-1)^[14]及氧化应激抑制剂(N-acetyl cysteine)^[15],发现这些抑制剂对铜离子载体诱导的细胞死亡均没有影响,说明铜离子载体诱导的细胞死亡是一种不同于已知的细胞死亡方式的新型细胞死亡方式。

同时,研究还显示,对线粒体呼吸依赖性强的细胞对铜离子载体的敏感性比进行糖酵解的细胞高出近 1 000 倍;与经 GPX4 铁死亡抑制剂处理的细胞相比,采用线粒体功能抑制剂处理的细胞对铜离子载体的敏感性影响有很明显的区别。用铜离子载体 ES 处理细胞后,三羧酸(TCA)循环相关产物代谢失调,进一步阐明了铜载体诱导的细胞死亡与 TCA 循环的密切联系。这种铜诱导的细胞死亡方式在 2022 年被首次命名为铜死亡(cuproptosis)^[16]。铜死亡的主要过程依赖于细胞内铜离子的积累,当过量的 Cu^{2+} 进入细胞时,它会被转运到线粒体并被还原为 Cu^+ 。这种 Cu^+ 干扰了 TCA 循环和电子传递链

(ETC),导致脂酰化蛋白的寡聚化和 Fe-S 簇蛋白的丢失,最终导致细胞死亡(图 2)。

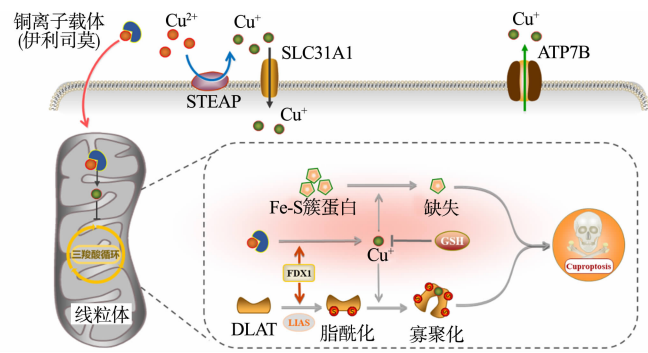


图 2 铜死亡机制示意图

Fig. 2 Schematic diagram of cuproptosis mechanism

为了进一步探究铜死亡的代谢途径,Tsvetkov 等^[1]使用 CRISPR-Cas9 技术进行功能丧失筛选,并鉴定了 7 个与铜诱导的细胞死亡相关的基因。它们分别编码铁氧还蛋白 1(ferredoxin 1,FDX1)、脂酰转移酶 1(lipolytransferase 1,LIPT1)、硫辛酸合成酶(lipoyl synthase,LIAS)、二氢硫辛酰胺脱氢酶(dihydrolipoamide dehydrogenase,DLD)、二氢硫辛酰胺 S-乙酰转移酶(dihydrolipoamide S-acetyltransferase,DLAT)、丙酮酸脱氢酶 E1- α 亚基(pyruvate dehydrogenase E1 subunit α_1 ,PDHA1)和丙酮酸脱氢酶 E1- β 亚基(pyruvate dehydrogenase E1 subunit β ,PDHB)。其中,LIPT1,LIAS,DLD 是硫辛酸途径的组分,丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase,PDH)复合物中的 DLAT、E1- α 亚基和 E1- β 亚基是脂酰化蛋白的靶点^[17]。

研究证实,FDX1/LIAS 是蛋白质脂酰化的上游调节因子,在调节细胞铜死亡过程中扮演着关键角色。FDX1 是铜死亡过程中的一个关键酶,具有很强的还原能力,可以将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{+} ,并可以在线粒体内对 DLAT、甘氨酸裂解系统蛋白 H(glycine cleavage system protein H,GCSH)、二氢硫辛酰转琥珀酰基酶(dihydrolipoamide-S-succinyltransferase,DLST)和二氢硫辛酰支链转移酶 E2(dihydrolipoamide branched-chain transacylase E2,DBT)这 4 种特定酶进行脂酰化。脂酰化是一种稀有但高度保守的半胱氨酸残基的翻译后修饰,在维持细胞代谢途径和保持正常线粒体功能方面起着至关重要的作用^[18]。一方面,进入细胞内的 Cu^{2+} 经 FDX1 还原后生成 Cu^{+} , Cu^{+} 可以结合已发生脂酰化的蛋白质,特别是在末端半胱氨酸残基的二硫键上,这导致蛋白质聚集,蛋白质聚集会干扰酶的结构、功能和活性,从而阻碍 TCA 循环的正常进行。例如,当 Cu^{+} 结合到丙酮酸脱氢酶复合物的一个亚基 DLAT 时,DLAT 发生寡聚,功能丧失,丙酮酸无法转化成乙酰辅酶 A,整个 TCA 循环被严重抑制。另一方面, Cu^{+} 也会影响线粒体中的 Fe-S 簇蛋白发挥作用,包括电子转移、催化反应、DNA 修复等^[19]。

3 铜死亡在肿瘤治疗方面的应用

铜死亡为肿瘤治疗提供了新视角。铜死亡诱导剂可触发细胞铜死亡过程,目前以铜离子载体为主,如伊利司莫、NSC-319726 和二硫化物等^[20]。这些化合物通过将铜离子引入细胞内并干扰 Fe-S 簇生物合成等途径诱导细胞铜死亡,具有潜在的抗癌效果^[21]。目前,伊利司莫正在癌症病人中进行 II 期临床试验^[22]。

此外,铜基纳米材料由于其内在的物理化学和生物特性、在生物体中的重要作用,以及近年来在各种疾病特别是癌症治疗中的重要作用而受到广泛关注。同时,新兴的纳米技术极大地促进了具有多功能性质的铜基纳米材料的制备,从而建立了一个“铜时代”^[23]。

Xu 等^[24]设计了一种葡萄糖氧化酶(GOx)包埋的 Cu(I) 1,2,4-三唑($[\text{Cu}(\text{tz})]$)配位聚合物纳米平台($\text{GOx}@\text{[Cu(tz)]}$),用于饥饿增强型铜死亡和光动力协同治疗。葡萄糖和谷胱甘肽的消耗使癌细胞对 $\text{GOx}@\text{[Cu(tz)]}$ 介导的铜代谢敏感,产生脂酰化的线粒体蛋白聚集,诱导铜死亡。体内实验结果表明, $\text{GOx}@\text{[Cu(tz)]}$ 对膀胱肿瘤生长的抑制率为 92.4%。这是第一个关于铜纳米材料能够诱导铜死亡用于膀胱癌协同治疗的报道。此外,Ni 等^[25]设计了一种新型的肿瘤微环境(TME)响应型核-壳结构树

突状分子(CSTD),并有效地装载了铜离子和化疗药物双硫仑(DSF),用于肿瘤靶向磁共振(MR)成像和铜死亡促进的化学-化学动力学治疗。CSTD-Cu(II)@DSF 可被 MCF-7 乳腺癌细胞特异性摄取,并在 ROS 过表达的弱酸性 TME 中释放药物。细胞内富集的 Cu^{2+} 离子可诱导脂酰化蛋白的寡聚化和蛋白毒性应激,诱导铜死亡,有效抑制 MCF-7 肿瘤的生长。

不仅如此,Xu 等^[26]还研发了一种新型铜/铁杂化空心无定形金属有机框架(HaMOF),用于负载阿霉素抗癌药(DOX@Fe/CuTH)。DOX@Fe/CuTH 可以同时促进 H_2O_2 的产生和谷胱甘肽的消耗,放大细胞氧化应激,还可以引起线粒体功能障碍,下调铜转运蛋白 ATP7A,导致代谢紊乱,并在细胞质中大量保留铜,过量的 Cu^{2+} 可引起 DLAT 蛋白聚集,导致细胞铜死亡。此外,Zhou 等^[27]还制备了光热触发纳米平台(Au@MSN-Cu/PEG/DSF),原位生成具有细胞毒性的双(二乙基二硫代氨基甲酸盐)铜(CuET),导致细胞凋亡,形成的 Cu^+ 促进线粒体蛋白聚集,导致铜死亡;与光热疗法协同作用,有效抑制肿瘤生长,抑制率高达 80.1%。这些结果为基于铜死亡的潜在癌症治疗提供了有希望的前景,为设计先进的铜基纳米治疗平台提供了启发。

4 结论与展望

综上所述,铜的吸收、转运、利用和排泄对维持生物体内的铜稳态具有显著影响,铜代谢紊乱可导致代谢异常,引起相关疾病。铜死亡是一种新型细胞调节性死亡方式,与 TCA 循环密切相关,近年来在肿瘤治疗中的应用日益凸显。深入了解铜死亡机制,开发新型铜基纳米材料,对于探索肿瘤治疗新方案,筛选肿瘤靶向的相关药物具有一定价值。

参考文献:

[1] TSVETKOV P,COY S,PETROVA B,*et al.* Copper induces cell death by targeting lipoylated tca cycle proteins[J]. Science,2022,375(6586):1254-1261. DOI:10.1126/science.abf0529.

[2] CHEN Xinyue,CAI Qi,LIANG Ruikai,*et al.* Copper homeostasis and copper-induced cell death in the pathogenesis of cardiovascular disease and therapeutic strategies[J]. Cell Death and Disease,2023,14(2):105. DOI:10.1038/s41419-023-05639-w.

[3] WANG Wuyin,MO Wentao,HANG Zishan,*et al.* Cuproptosis: Harnessing transition metal for cancer therapy[J]. ACS Nano,2023,17(20):19581-19599. DOI:10.1021/acsnano.3c07775.

[4] HORNG Y C,COBINE P A,MAXFIELD A B,*et al.* Membrane transport, structure, function, and biogenesis: Specific copper transfer from the COX17 metallochaperone to both SCO1 and COX11 in the assembly of yeast cytochrome c oxidase [J]. The Journal of Biological Chemistry,2004,279(34):35334-35340. DOI:10.1074/jbc.M404747200.

[5] CULOTTA V C,KLOMP L W J,STRAIN J. The copper chaperone for superoxide dismutase[J]. Journal of Biological Chemistry,1997,272(38):23469-23472. DOI:10.1074/jbc.272.38.23469.

[6] HATORI Y,INOUE S,AKAGI R. Thiol-based copper handling by the copper chaperone atox1[J]. International Union of Biochemistry Molecular Biology Life,2017,69(4):246-254. DOI:10.1002/iub.1620.

[7] FRANCESCO T B,SERENA S. Mechanisms of charge transfer in human copper atpases ATP7A and ATP7B[J]. IUBMB Life,2017,69(4):218-225. DOI:10.1002/iub.1603.

[8] CHEN Liyun,MIN Junxia,WANG Fudi. Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy,2022,7(1):378. DOI:10.1038/s41392-022-01229-y.

[9] HOON S,LEAH H Z. Genetic defects in copper metabolism[J]. The Journal of Nutrition,2003,133(5):1527S-1531S. DOI:10.1038/sj.ijo.0802279.

[10] TSVETKOV P,DETAPPE A,CAI Kai,*et al.* Mitochondrial metabolism promotes adaptation to proteotoxic stress [J]. Nature Chemical Biology,2019,15(7):757. DOI:10.1038/s41589-019-0315-5.

[11] XU Weijun,WANG Yaping,HOU Guanghui,*et al.* Tumor microenvironment responsive hollow nanoplatfor for triple amplification of oxidative stress to enhance cuproptosis-based synergistic cancer therapy[J]. Advanced Healthcare Materials,2023,12(13):2202949. DOI:10.1002/adhm.202202949.

[12] SHEEN-CHEN S M,HUNG K S,ENG H L. Effect of BOC-D-FMK on hepatocyte apoptosis after bile duct liga-

- tion in rat and survival rate after endotoxin challenge[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2008, 23(8pt1):1276-1279. DOI:10.1111/j.1440-1746.2008.05368.x.
- [13] XIE Wensheng, GUO Zhenhu, ZHAO Lingyun, *et al.* The copper age in cancer treatment: From copper metabolism to cuproptosis[J]. *Progress in Materials Science*, 2023, 138(1):101145. DOI:10.1016/j.pmatsci.2023.101145.
- [14] YOU Zerong, SAVITZ S, YANG Jinsheng. Necrostatin-1 reduces histopathology and improves functional outcome after controlled cortical impact in mice[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2008, 28(9):1564-1573. DOI:10.1038/jcbfm.2008.44.
- [15] CECONI C, CURELLO S, CARGNONI A, *et al.* The role of glutathione status in the protection against ischaemic and reperfusion damage: Effects of N-acetyl cysteine[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 1987, 19(3):S11. DOI:10.1016/S0022-2828(87)80040-8.
- [16] 刘骏达, 钟薇薇, 鲁显福, 等. 铜死亡与铜代谢相关疾病研究进展[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2022, 32(4):318-325. DOI:10.13312/j.issn.1671-7783.y220108.
- [17] 朱洁洁, 王华. 铜诱导调节性细胞死亡的作用机制与抗肿瘤治疗的研究[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2022, 32(4):326-349. DOI:10.13312/j.issn.1671-7783.y220122.
- [18] 黄本林, 付瑞, 王宁, 等. 铜死亡与肿瘤的关系研究进展[J]. *临床误诊误治*, 2022, 35(11):112-116. DOI:10.3969/j.issn.1002-3429.2022.11.024.
- [19] LEE K C, YEO W S, ROE J H. Oxidant-responsive induction of the *suf* operon, encoding a Fe-S assembly system, through Fur and IscR in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(24):8244-8247. DOI:10.1128/JB.01161-08.
- [20] LI Duguang, SHI Zhaoqi, LIU Xiaolong, *et al.* Identification and development of a novel risk model based on cuproptosis-associated RNA methylation regulators for predicting prognosis and characterizing immune status in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology International*, 2023, 17(1):112-130. DOI:10.1007/s12072-022-10460-2.
- [21] WANG Changhong, XUE Ji, YANG Guang, *et al.* Role of NSC319726 in ovarian cancer based on the bioinformatics analyses[J]. *Oncotargets and Therapy*, 2015, 8(3):3757-3765. DOI:10.2147/OTT.S86343.
- [22] NGWANE A H, PETERSEN R D, BAKER B, *et al.* The evaluation of the anti-cancer drug elesclomol that forms a redox-active copper chelate as a potential anti-tubercular drug: The evaluation of the anti-cancer drug elesclomol[J]. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 2019, 71(5):532-538. DOI:10.1002/iub.2002.
- [23] DU Yaqian, ZHANG Rui, YANG Jiani, *et al.* A “closed-loop” therapeutic strategy based on mutually reinforced ferroptosis and immunotherapy[J]. *Advanced Functional Materials*, 2022, 32(13):2111784. DOI:10.1002/adfm.202111784.
- [24] XU Yuzhi, LIU Siyang, ZENG Leli, *et al.* An enzyme-engineered nonporous copper(I) coordination polymer nano-platform for cuproptosis-based synergistic cancer therapy[J]. *Advanced Materials*, 2022, 34(43):2204733. DOI:10.1002/adma.202204733.
- [25] NI Cheng, OUYANG Zhijun, LI Gaoming, *et al.* A tumor microenvironment-responsive core-shell tecto dendrimer nano-platform for magnetic resonance imaging-guided and cuproptosis-promoted chemo-chemodynamic therapy[J]. *Acta Biomaterialia*, 2023, 164(1):474-486. DOI:10.1016/j.actbio.2023.04.003.
- [26] XU Weijun, QIAN Junmin, HOU Guanghui, *et al.* A hollow amorphous bimetal organic framework for synergistic cuproptosis/ferroptosis/apoptosis anticancer therapy via disrupting intracellular redox homeostasis and copper/iron metabolisms[J]. *Advanced Functional Materials*, 2022, 32(40):2205013. DOI:10.1002/adfm.202205013.
- [27] ZHOU Jie, YU Qiao, SONG Juan, *et al.* Photothermally triggered copper payload release for cuproptosis-promoted cancer synergistic therapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(12):e202213922. DOI:10.1002/anie.202213922.

(责任编辑:黄晓楠 英文审校:刘源岗)