

DOI: 10.13376/j.cbbs/20240101

文章编号: 1004-0374(2024)08-1000-12

## 铜稳态、铜死亡与铜相关抗肿瘤药物研究进展

孔文哲, 路璐, 樊赛军\*

(中国医学科学院北京协和医学院放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室, 天津 300192)

**摘要:** 铜是人体必需的微量元素, 作为体内众多蛋白质和酶的辅因子, 铜参与多种生理活动, 铜过载与铜缺乏可导致多种疾病, 铜在肿瘤的稳态调节与肿瘤进展中也发挥了重要作用。铜在体内受到铜相关蛋白网络调节, 包括铜酶、铜伴侣蛋白和膜转运蛋白等, 这些蛋白质共同调节铜的摄入、排出和细胞内利用, 从而维持机体铜稳态。铜死亡是一种由线粒体内过量铜离子诱发, 靶向三羧酸循环的细胞死亡形式, 以线粒体硫辛酰化蛋白聚集和铁硫簇蛋白丢失为特征, 铜死亡的发现为包括肿瘤在内的疾病治疗提供了新的研究方向。靶向铜是目前肿瘤研究的方向之一, 包括使用铜离子载体提高细胞内铜含量来诱导氧化应激与铜死亡, 或使用铜离子螯合剂降低铜的生物利用度。本文综述了铜稳态、铜死亡以及铜相关抗肿瘤药物的最新研究进展, 以期以为铜死亡为靶点的肿瘤治疗提供参考。

**关键词:** 铜稳态; 铜死亡; 肿瘤; 铜离子载体; 铜离子螯合剂

**中图分类号:** Q946.5; Q591.4 **文献标志码:** A

## Progress in copper homeostasis, cuproptosis, and copper-related antitumor drugs

KONG Wen-Zhe, LU Lu, FAN Sai-Jun\*

(Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

**Abstract:** Copper is an essential trace metal element for human body. As a cofactor for numerous proteins and enzymes in the organism, copper is involved in a variety of physiological activities. Copper also plays an important role in the regulation of tumor homeostasis and progression. Copper overload and copper deficiency can lead to many diseases, such as Menke's disease and Wilson's disease. Thus, copper is regulated by a network of copper-related proteins, including copper enzymes, copper chaperonins, and membrane transport proteins. These proteins maintain copper homeostasis by regulating copper intake, export and intracellular utilization. Cuproptosis is a novel form of cell death induced by excessive copper ions in the mitochondria. It is characterized by the accumulation of mitochondrial lipoacylated proteins and the loss of iron-sulfur cluster proteins. The discovery of cuproptosis provides a new method for the treatment of diseases, including tumours. Targeting copper is one of the current hotspots in tumor research, including the use of copper ionophores to increase intracellular copper content to induce oxidative stress and cuproptosis, and the use of copper ion chelators to reduce the bioavailability of copper. In this paper, we conducted a systematic review on copper homeostasis, cuproptosis and copper-related antitumor drugs, in order to provide reference for the study of cancer treatment by targeting cuproptosis.

**Key words:** copper homeostasis; cuproptosis; cancer; copper ionophore; copper chelator

---

收稿日期: 2024-03-11; 修回日期: 2024-06-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(82273577)

\*通信作者: E-mail: fansaijun@irm-cams.ac.cn; Tel: 022-85685301

铜是人体必需的微量元素, 主要通过食物和饮水摄入。铜是体内众多蛋白质和酶的辅因子, 参与抗氧化防御系统的构成、神经肽的合成和免疫功能的维持等<sup>[1]</sup>。铜摄入不足可导致贫血、消瘦等症状, 铜摄入过量可引起急、慢性中毒, 严重者可致死亡, 体内铜代谢障碍可引发 Menke's 病与 Wilson's 病<sup>[2]</sup>。体内铜的摄入、排出和细胞内利用受到复杂的铜相关蛋白网络调节, 并维持在相对稳定的状态<sup>[3]</sup>。铜死亡是一种由线粒体内过量铜离子诱发, 靶向三羧酸循环的细胞死亡形式, 以线粒体硫辛酰化蛋白聚集和铁硫簇蛋白丢失为特征<sup>[4]</sup>, 铜死亡的发现为包括肿瘤在内的疾病治疗提供了新的研究方向。靶向铜是目前肿瘤研究的方向之一, 包括使用铜离子载体(如双硫仑、伊利司莫等)提高细胞内铜含量, 以诱导氧化应激与铜死亡, 或使用铜离子螯合剂(如四硫钼酸盐等)降低铜的生物利用度。本文综述了铜稳态、铜死亡以及铜相关抗肿瘤药物相关的最新研究进展, 以期以铜死亡为靶点的肿瘤治疗提供参考。

## 1 铜稳态与铜代谢

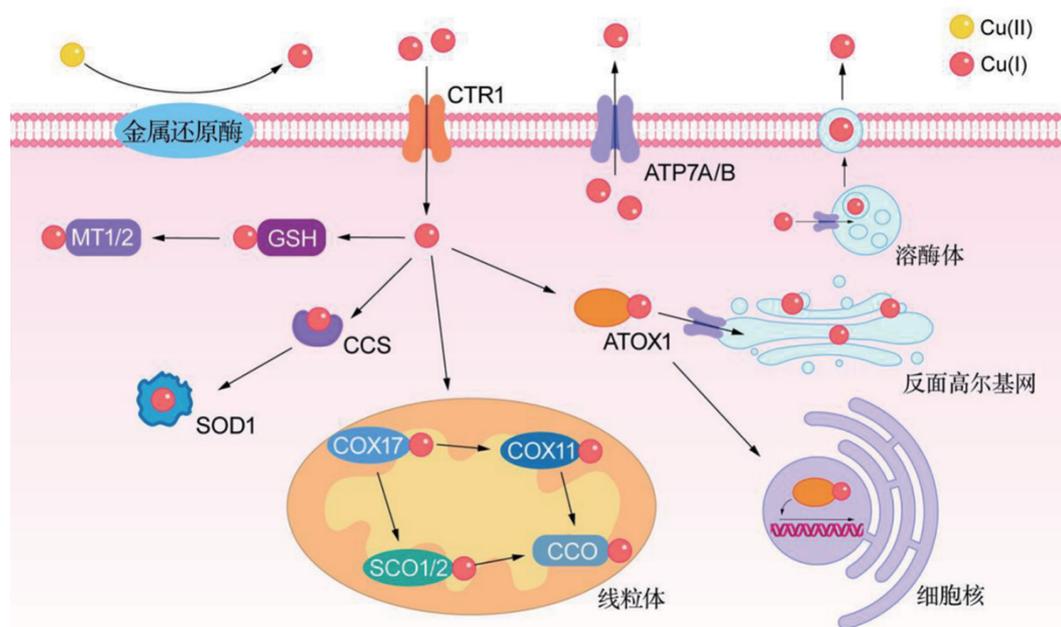
铜富含于多种食物之中, 如动物内脏、海鲜、谷类以及蔬菜水果等, 饮用水也是体内铜的重要来源, 目前推荐的成人每日铜摄入量为 2~3 mg<sup>[5]</sup>。虽然铜是人体必需的元素, 但过量铜可通过芬顿反应( $\text{Cu}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ )产生羟自由基( $\cdot\text{OH}$ ),  $\cdot\text{OH}$  是一种重要的活性氧(reactive oxygen species, ROS), 可破坏 DNA、蛋白质和脂质等进而诱导细胞毒性<sup>[6]</sup>。因此, 铜受到体内复杂的铜相关蛋白网络调节, 包括铜酶、铜伴侣蛋白和膜转运蛋白等, 这些蛋白共同调节铜的摄入、排出和细胞内利用, 从而维持机体铜稳态<sup>[3]</sup>。人体内游离铜水平较低, 多数铜通过与蛋白质或其他分子结合, 以结合铜形式储存或参与生化反应<sup>[7]</sup>。

摄入的铜主要通过肠上皮进行吸收, 十二指肠是主要的吸收部位<sup>[8]</sup>。膳食中的铜多以氧化形式的  $\text{Cu}^{2+}$  存在, 但只有  $\text{Cu}^+$  可以被机体吸收和利用, 因此, 如图 1 所示, 摄入的  $\text{Cu}^{2+}$  首先由六跨膜前列腺上皮抗原或十二指肠细胞色素 b 等金属还原酶转换为  $\text{Cu}^+$ , 随后通过铜转运蛋白 1 (copper transporter 1, CTR1) 介导进入肠细胞<sup>[9-10]</sup>。CTR1 是肠道吸收铜的主要因子, 特异性敲除肠道 CTR1 可致使外周组织出现铜缺乏<sup>[11]</sup>。CTR1 表达水平与体内铜含量相关, 铜过量时表达下调, 铜缺乏时则上调<sup>[12]</sup>。低亲

和力的铜转运蛋白 2 (CTR2)<sup>[13]</sup>、二价金属转运蛋白 1 (DMT1)<sup>[14]</sup> 等也参与铜的摄入。

被吸收的铜通过肠上皮细胞基底外侧膜的 ATP7A 释放入血<sup>[15]</sup>。在血中, 除小部分与白蛋白、转铁蛋白和游离氨基酸结合外, 大部分铜与铜蓝蛋白结合<sup>[16]</sup>, 并通过门静脉系统转运至肝脏。肝细胞通过 CTR1 摄取铜, 肝脏是铜储存与排泄的主要器官<sup>[17]</sup>。如图 1 所示, 在细胞质中, 铜可与谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 结合并被转移至金属硫蛋白 (metallothionein, MT) 中, GSH 与 MT 均富含巯基, 因此对铜有很高的亲和力, 肝脏 MT1 和 MT2 是铜的主要储存位点<sup>[18]</sup>。主要在中枢神经系统中表达的 MT3 也参与铜稳态调节<sup>[19]</sup>。在肝细胞内, 铜也参与铜蓝蛋白的合成, 结合铜的铜蓝蛋白被释放入血, 并被转运到特定组织或器官中参与催化多种生理反应<sup>[7]</sup>。当体内铜含量超过正常阈值时, 肝细胞可通过 ATP7B 将铜转运至胆汁, 随后胆汁通过胆管被排入肠道, 最后通过粪便排出体外, 胆汁排泄是机体排出铜的主要途径<sup>[2]</sup>。综上所述, 系统性的铜代谢主要通过小肠吸收和肝脏排泄来调节, 铜过量时吸收减少而排泄增加, 铜缺乏时则相反。

在细胞内, 铜主要以  $\text{Cu}^+$  形式参与生理反应, CTR1 是细胞摄入铜的主要途径<sup>[20]</sup>。如图 1 所示, 进入细胞后, 铜可结合多种铜分子伴侣, 如细胞色素 C 氧化酶铜伴侣 11/17 (cytochrome c oxidase copper chaperone 11/17, COX11/17)、超氧化物歧化酶铜伴侣 (copper chaperone for superoxide dismutase, CCS)、抗氧化蛋白 1 (antioxidant protein 1, ATOX1) 等, 进而被递送至特定的蛋白质或细胞区室发挥作用。ATOX1 可将铜转运到位于反面高尔基网 (trans-golgi network, TGN) 或细胞膜上的 ATP7A/B<sup>[21]</sup>。TGN 中的 ATP7A/B 可促进赖氨酰氧化酶、酪氨酸酶和铜蓝蛋白等铜相关酶的合成<sup>[22]</sup>; 而细胞膜上的 ATP7A/B 则负责将铜排出细胞。在细胞核中, ATOX1 可与铜结合进而充当转录因子, 驱动基因表达<sup>[23]</sup>, 缺乏 ATOX1 编码基因的小鼠会因铜稳态失衡而在围产期死亡<sup>[24]</sup>。超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1) 又被称为铜锌超氧化物歧化酶, 可催化超氧自由基阴离子 ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) 生成过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )<sup>[25]</sup>,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  参与体内 ROS 的生成。CCS 能够与 CTR1 和 SOD1 结合进而形成 CTR1-CCS-SOD1 复合体, 该复合体可将铜转移至 SOD1 从而激活 SOD1, 进而调节细胞内氧化应激<sup>[26]</sup>。此外, 铜还参与线粒体内细胞色素



细胞外的 $\text{Cu}^{2+}$ 被金属还原酶还原为 $\text{Cu}^+$ ，随后通过铜转运蛋白1 (copper transporter 1, CTR1)进入细胞。在细胞内，铜可被储存于金属硫蛋白1/2 (metallothionein 1/2, MT1/2)中，或与多种铜分子伴侣结合进而被递送至特定的蛋白质或细胞区室发挥作用。过量的铜可通过胞吐或铜转运ATP酶A/B (copper transporting ATPase 7A/B, ATP7A/B)排出细胞。GSH，谷胱甘肽；CCS，超氧化物歧化酶铜伴侣；SOD1，超氧化物歧化酶1；COX17，细胞色素C氧化酶铜伴侣17；COX11，细胞色素C氧化酶铜伴侣11；SCO1/2，细胞色素C氧化酶合成物1/2；CCO，细胞色素C氧化酶；ATOX1，抗氧化蛋白1。

图1 细胞铜代谢示意图

C氧化酶 (cytochrome c oxidase, CCO) 的合成。在人类中，CCO包含两个核心亚基COX1和COX2 (cytochrome c oxidase subunit 1/2)，它们分别在 $\text{Cu}_B$ 和 $\text{Cu}_A$ 位点与铜结合<sup>[27]</sup>。COX17将铜从细胞质转运到线粒体膜间隙<sup>[28]</sup>，随后铜通过细胞色素C氧化酶合成物1/2 (synthesis of cytochrome c oxidase 1/2, SCO1/2)转移到COX2亚基，或通过COX11转移到COX1亚基<sup>[29-30]</sup>，进而参与呼吸链电子传递与氧化磷酸化过程。COX17、SCO1/2突变会导致CCO活性降低并影响机体能量代谢<sup>[31-32]</sup>。

如图1所示，ATP7A/B是铜排出细胞的主要转运体，其定位和功能处于动态调节之中<sup>[33]</sup>：当细胞内铜离子处于生理水平时，这些转运体位于TGN中，它们将铜离子从细胞质泵入TGN腔内；当细胞内铜增加时，这些转运体从TGN转移到质膜上进而将铜排出细胞。ATP7A和ATP7B具有不同的表达模式，前者在大多数组织或器官中表达，而后者主要在肝脏表达<sup>[22]</sup>。肠上皮细胞也表达ATP7B，主要负责在细胞内的囊泡中储存铜，以维持细胞内的铜稳态<sup>[34]</sup>。当过量的铜进入肝细胞时，ATP7B可从TGN转移到溶酶体进而通过胞吐将铜排入胆

汁<sup>[35]</sup>；此外，转移到顶端膜上的ATP7B也可直接将铜排入胆汁<sup>[36]</sup>。因此，ATP7A和ATP7B突变易导致铜代谢紊乱，使铜在细胞内蓄积，从而导致Menke's病和Wilson's病的发生<sup>[2,35]</sup>。

## 2 铜死亡及其机制

铜死亡是最新发现的一种铜依赖的细胞死亡形式。铜离子可通过凋亡、Caspase非依赖性细胞死亡、氧化应激、自噬和铁死亡等途径诱导细胞死亡<sup>[37]</sup>。2022年，*Science*杂志报道，细胞内过量的铜离子诱导了一种全新的调节性细胞死亡形式，以硫辛酰化蛋白聚集和铁硫簇蛋白丢失为特征<sup>[4]</sup>。

Tsvetkov等<sup>[4]</sup>发现，铜离子载体伊利司莫 (elesclomol, ES)联合 $\text{Cu}^{2+}$ 可提高细胞内的铜离子水平并诱导细胞死亡，而单独使用ES则没有效果。ES-Cu诱导的细胞死亡不涉及凋亡标志物Caspase-3的切割或激活，敲除凋亡效应因子BAX和BAK1或通过抑制已知的细胞死亡途径（如坏死性凋亡、铁死亡和氧化应激等）均未能缓解ES-Cu诱

导的细胞死亡，只有铜离子螯合剂四硫钼酸盐 (tetrathiomolybdate, TTM,  $[\text{MoS}_4^{2-}]$ ) 可以抑制细胞死

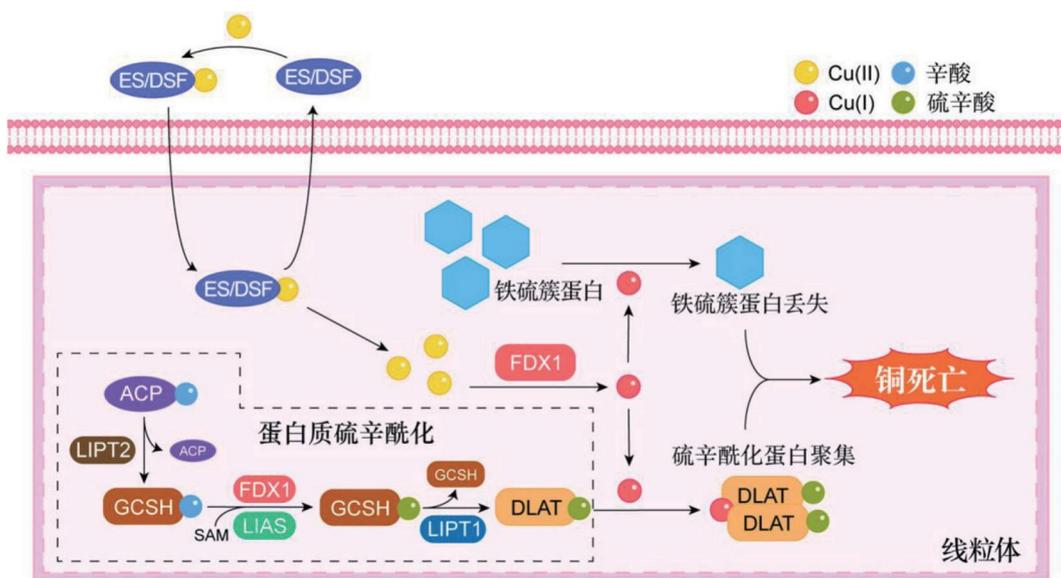
亡, 表明铜死亡不同于已知的其他细胞死亡形式<sup>[4]</sup>。

既往研究表明, 铜可通过诱导线粒体氧化损伤或破坏三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA cycle) 相关酶进而导致细胞死亡<sup>[38]</sup>, 但具体机制尚未明确。与之类似, Tsvetkov 等<sup>[4]</sup>发现: 高度依赖线粒体呼吸的细胞对铜诱导的细胞死亡更加敏感, 缺氧环境或使用电子传递链复合物抑制剂、丙酮酸摄取抑制剂或线粒体功能抑制剂均可缓解铜诱导的细胞死亡; 细胞耗氧率测定结果显示 ES-Cu 导致细胞备用呼吸能力明显降低, 而基础呼吸与 ATP 相关呼吸并未明显减弱, 证明铜直接作用于 TCA 循环而不是电子传递链或 ATP 合成。此外, 经 ES-Cu 处理的细胞, 其TCA 循环相关代谢产物含量发生明显改变, 进一步表明铜死亡与 TCA 循环密切相关<sup>[4]</sup>。

随后, Tsvetkov 等<sup>[4]</sup>通过全基因组 CRISPR-Cas9 筛选确定了促进铜死亡的7 个关键基因, 如表 1 所示, 包括 FDX1、LIAS、LIPT1、DLAT、DLD、PDHA1 和 PDHB, 这些基因均与硫辛酸通路相关, 参与线粒体蛋白质的硫辛酰化过程<sup>[4]</sup>。硫辛酰化是激活多种线粒体酶复合体所必需的, 如图 2 所示, 人体内硫辛酸的生物合成包含多个步骤: 酰基载体蛋白 (acyl-carrier protein, ACP) 上的酰基链通过延伸、还原和脱水过程生成辛酰 ACP; 硫辛酰转移酶 2 (lipolytransferase 2, LIPT2) 将辛酰基部分从 ACP

转移到甘氨酸裂解系统 H 蛋白 (glycine cleavage system H protein, GCSH) 上; LIAS 通过消耗 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM), 在辛酰基的 6 号和 8 号碳上插入硫原子, 进而完成 GCSH 上硫辛酸的合成; 最后, LIPT1 将硫辛酰部分从 GCSH 转移到靶蛋白(如 DLAT、DLST 等)上, 进而完成线粒体蛋白质的硫辛酰化<sup>[39-40]</sup>。哺乳动物细胞内已发现的硫辛酰化蛋白大多与TCA 循环相关<sup>[41]</sup>。单独敲除 FDX1 或 LIAS 均可缓解 ES-Cu 诱导的细胞死亡, 而 FDX1 与人类肿瘤样本的硫辛酰化蛋白水平高度相关, 并且 FDX1 的缺失会导致蛋白质硫辛酰化的完全丧失, 因此, FDX1 可能是硫辛酰化的上游调节因子<sup>[4]</sup>。后续研究证实, FDX1 直接结合 LIAS, 并作为电子供体, 参与 LIAS 介导的蛋白质硫辛酰化反应<sup>[42]</sup>。FDX1 也是ES 作用的直接靶点, 可将 ES 携带的  $\text{Cu}^{2+}$  还原为  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^+$  通过直接与硫辛酰化的 DLAT 结合, 导致 DLAT 的聚集和功能丧失<sup>[4,43]</sup>。

铜死亡也涉及线粒体铁硫簇蛋白的破坏。铁硫簇是线粒体呼吸酶的重要辅因子, 铜可抑制铁硫簇的形成并阻碍线粒体铁硫簇蛋白的组装<sup>[44]</sup>。在酿酒酵母中, 过量铜会破坏线粒体铁氧还原蛋白 Yah1 的 Fe-S 结构域<sup>[45]</sup>, 导致结合铁硫簇的核糖体生物合成蛋白 Rli1 失活<sup>[46]</sup>, 进而阻碍铁硫簇合成。线



铜离子载体将  $\text{Cu}^{2+}$  载入细胞线粒体内, 随后  $\text{Cu}^{2+}$  被铁氧还原蛋白 1 (ferredoxin 1, FDX1) 还原为  $\text{Cu}^+$ , 诱导铁硫簇蛋白丢失与硫辛酰化蛋白聚集, 进而引发细胞死亡。ES, 伊利司莫; DSF, 双硫仑; ACP, 酰基载体蛋白; LIPT2, 硫辛酰转移酶 2; GCSH, 甘氨酸裂解系统 H 蛋白; LIAS, 硫辛酰合成酶; SAM, S-腺苷甲硫氨酸; LIPT1, 硫辛酰转移酶 1; DLAT, 二氢脂酰 S-乙酰基转移酶。

图2 铜死亡示意图

表1 促进铜死亡的相关基因<sup>[4]</sup>

基因	基因全称		功能
FDX1	ferredoxin 1	铁氧还原蛋白1	将Cu <sup>2+</sup> 还原为Cu <sup>+</sup> ; 参与蛋白质硫辛酰化过程
LIPT1	lipolytransferase 1	硫辛酸转移酶1	参与蛋白质硫辛酰化过程
LIAS	lipoyl synthase	硫辛酸合成酶	
DLD	dihydrolipoamide dehydrogenase	二氢硫辛酰胺脱氢酶	丙酮酸脱氢酶复合体组分
PDHA1	pyruvate dehydrogenase E1 subunit $\alpha$ 1	丙酮酸脱氢酶E1亚单位 $\alpha$ 1	
PDHB	pyruvate dehydrogenase E1 subunit $\beta$	丙酮酸脱氢酶E1亚单位 $\beta$	
DLAT	dihydrolipoamide S-acetyltransferase	二氢脂酰S-乙酰基转移酶	

粒体 ABC 转运蛋白 ATM1 缺失能增强铜对铁硫簇合成的抑制作用<sup>[47]</sup>。Tsvetkov 等<sup>[4]</sup>发现, 细胞经铜离子载体处理后同样出现了铁硫簇蛋白的破坏。铁硫簇与线粒体蛋白硫辛酰化也具有密切联系, 硫辛酸合成时所需的硫需要 LIAS 的铁硫簇提供, 铁硫簇的破坏可能会影响蛋白质硫辛酰化过程<sup>[42]</sup>。综上所述, 如图 2 所示, 铜死亡可总结为细胞内过量的铜离子诱导线粒体硫辛酰化蛋白的聚集和铁硫簇蛋白的破坏, 触发蛋白毒性应激并最终导致细胞死亡。

### 3 铜相关抗肿瘤药物

铜在肿瘤的稳态调节及肿瘤进展中发挥重要作用, 与正常组织相比, 肿瘤对铜的需求更高<sup>[48]</sup>。临床研究显示, 相较于健康人群, 癌症患者的血清或肿瘤组织中铜离子水平显著升高, 较高的铜离子水平往往代表较差的临床分期及预后<sup>[49-50]</sup>。铜可提高基因组不稳定性、促进血管生成和上调促肿瘤信号通路, 进而增强肿瘤的转移性和侵袭力<sup>[51]</sup>。虽然铜有利于肿瘤的增殖与转移, 但过量的铜离子已被证明通过凋亡或氧化应激等途径诱导肿瘤细胞死亡, 最新发现的铜死亡也为肿瘤治疗提供了新的潜在靶点。铜相关抗肿瘤药物是目前肿瘤研究的热点之一, 针对铜的肿瘤治疗方案包括使用铜离子螯合剂降低铜的生物利用度, 或使用铜离子载体提高肿瘤细胞内的铜含量。

#### 3.1 铜离子载体

铜离子载体是一种脂溶性分子, 与 Cu<sup>2+</sup> 可逆结合, 可跨膜转运铜离子, 在铜死亡中发挥了重要作用, 有望作为全新的抗肿瘤药物用于临床治疗。双硫仑 (disulfiram, DSF) 与伊利司莫 (ES) 是目前研

究较为深入的两种铜离子载体, 可将 Cu<sup>2+</sup> 转运至细胞或线粒体内以诱导铜依赖的细胞死亡。

##### 3.1.1 双硫仑

双硫仑是一种乙醛脱氢酶 (acetaldehyde dehydro-





genase, ALDH) 抑制剂, 于上世纪被美国 FDA 批准用于治疗酒精成瘾, 药代动力学研究广泛, 价格低廉且具有良好的安全性与耐受性<sup>[52]</sup>。DSF 在体内可被还原为二乙基二硫代氨基甲酸酯 (diethyl-dithiocarbamate, DTC), 作为 DSF 的活性形式, DTC 可与  $\text{Cu}^{2+}$  结合形成络合物 CuET (DSF-copper complex) 进而发挥抗癌作用<sup>[53]</sup>。DSF 联合铜可通过多种途径发挥抗肿瘤活性, 包括抑制泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin proteasome pathway, UPS)、调节核因子- $\kappa\text{B}$  (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa\text{B}$ ) 通路、促进 ROS 积累、抑制肿瘤干细胞形成和铜死亡等。

DSF-Cu 可通过抑制蛋白酶体活性进而发挥抗癌作用。p97/VCP (valosin-containing protein) 是 UPS 的重要分离酶, Skrott 等<sup>[54]</sup> 证明, DSF-Cu 可靶向 p97/VCP 分离酶的接头蛋白核定位蛋白 4 (nuclear protein localization protein 4, NPL4) 并诱导其聚集, 进而失活 p97-NPL4-UFD1 通路, 干扰蛋白质降解机制, 引发热休克反应和细胞死亡。分子机制研究证实, DSF-Cu 通过抑制 p97-NPL4-UFD1 复合体的构象改变进而抑制 UPS 功能<sup>[55]</sup>。

肿瘤启动细胞 (tumor-initiating cell, TIC) 或肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 的形成与增殖是化疗耐药、辐射抵抗与肿瘤复发的重要因素。研究发现, DSF-Cu 可通过抑制 UPS 活性, 逆转辐射诱导的 NF- $\kappa\text{B}$  表达上调, 进而抑制下游干性基因 ERBB2、SOX9 和 MYC 的表达, 阻碍辐射诱导的乳腺癌干细胞 (breast cancer stem cell, BCSC) 形成<sup>[56]</sup>。此外, DSF-Cu 还可通过激活 IRE1 $\alpha$ -XBP1 通路增强辐射诱导的免疫原性细胞死亡<sup>[57]</sup>, 提高 BCSC 的辐射敏感性。Liu 等<sup>[58]</sup> 发现, DSF-Cu 可消除乳腺癌耐药细胞系 MDA-MB-231<sub>PAC10</sub> 的 CSC 特性, 逆转对抗肿瘤药物紫杉醇和顺铂的抗性, 提高化疗疗效。DSF-Cu 与 PI3K 抑制剂 BKM120 联合使用可降低乳腺癌细胞中 ALDH<sup>+</sup> 和 CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup> TIC 数量并

提高 TIC 的凋亡水平<sup>[59]</sup>。ALDH 活性升高是 CSC 的标志之一, 因此 DSF-Cu 的抗癌活性常被归因于对 ALDH 的抑制<sup>[60]</sup>。然而, 2019 年的研究显示, DSF-Cu 的活性形式 CuET 并不能抑制 ALDH 活性, 单独抑制 ALDH 也不会影响肿瘤细胞活力<sup>[61]</sup>, 这些不同结论的结果仍待进一步深入探索。

除作用于 TIC 与 CSC 外, DSF-Cu 还可通过促进 ROS 积累或细胞周期阻滞等机制发挥抗癌作用。DSF-Cu 可通过提高 ROS 水平进而激活 MAPK 信号通路导致鼻咽癌细胞凋亡, p53 介导的铁死亡也参与其中<sup>[62]</sup>。DSF-Cu 也可通过激活 ROS-JNK 通路以及抑制 NF- $\kappa$ B 和 Nrf2 通路进而发挥抗白血病作用<sup>[63]</sup>。此外, DSF-Cu 可促进抑癌基因 PTEN 和 FoxOs 的表达并抑制癌基因 MYC 的表达, 进而诱导急性髓细胞性白血病细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞和凋亡<sup>[64]</sup>。DSF-Cu 还能破坏 DNA 修复途径, 增强化疗药物替莫唑胺和  $\gamma$  辐射对胶质母细胞瘤的治疗效果<sup>[65]</sup>。临床研究表明, DSF-Cu 联合替莫唑胺可提高胶质瘤患者的无进展生存期<sup>[66]</sup>。与确诊癌症后停用 DSF 的患者相比, 继续服用 DSF 患者的癌症死亡率显著降低<sup>[54]</sup>。

铜死亡为肿瘤治疗提供了新的方向, 最新的研究发现 DSF-Cu 可诱导多种肿瘤发生铜死亡<sup>[67-68]</sup>。DSF-Cu 全身给药可能对正常组织造成损伤, 因此, 如何增强其靶向性是目前研究的热点。Zhou 等<sup>[69]</sup>通过构建光热触发纳米平台 Au@MSN-Cu/PEG/DSF, 将 DSF 与 Cu<sup>2+</sup> 靶向递送至肿瘤组织, 释放后二者原位结合并产生毒性更强的 Cu<sup>+</sup>, 促进硫辛酰化线粒体蛋白聚集并诱导肿瘤细胞死亡。DSF-Cu 会增加肿瘤中程序性死亡配体 1 (programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) 的表达, 诱导肿瘤细胞免疫逃逸, 因此联合 PD-L1 抑制剂可增强 DSF-Cu 诱导的肺癌细胞铜死亡<sup>[70]</sup>。Liu 等<sup>[71]</sup>构建了一种 CuX-P 体系, 该体系被过表达程序性死亡受体 1 的 T 细胞膜包裹, 内含负载 DSF-Cu 的 MXene 纳米片。CuX-P 识别并黏附于肿瘤细胞表面的 PD-L1, 随后被肿瘤细胞内吞, 增加细胞内 DSF-Cu 含量并促进 PD-L1 表达, 在肿瘤表面补充的 PD-L1 再次结合并内化 CuX-P, 不断消耗肿瘤表面的 PD-L1 并促进 CuX-P 在肿瘤内的富集, 从而靶向诱导乳腺癌细胞铜死亡。

### 3.1.2 伊利司莫(ES)

ES 是一种新型铜离子载体。电化学研究表明, ES 可与 Cu<sup>2+</sup> 按 1:1 比例结合形成络合物<sup>[72]</sup>。该络

合物将 Cu<sup>2+</sup> 转运至线粒体内, 并在 Cu<sup>2+</sup> 被 FDX1 还原为 Cu<sup>+</sup> 后释放 Cu<sup>+</sup>, 随后 ES 从细胞排出并继续转运 Cu<sup>2+</sup> 至线粒体内, 不同于 DSF, ES 对线粒体具有高度选择性<sup>[73]</sup>。

ES 最初被发现可用于增强紫杉醇的抗肿瘤活性<sup>[74]</sup>, 进而提高对难治性实体瘤和 IV 期转移性黑色素瘤患者的疗效<sup>[75]</sup>。长期以来, ES 的抗癌作用被认为与线粒体氧化应激相关。Nagai 等<sup>[73]</sup>发现, ES 通过转运铜至线粒体内促进 ROS 积累, 进而抑制肿瘤增殖。在人白血病 K562 细胞中, 铜离子可被 ES 转运至细胞内, 氧化抗坏血酸并与过氧化氢反应产生大量 ROS<sup>[76]</sup>; 此外, ES-Cu 还可将细胞周期阻滞在 G<sub>1</sub> 期, 损伤 DNA 并破坏线粒体膜电位, 进而发挥细胞毒性作用<sup>[77]</sup>。葡萄膜黑色素瘤是一种预后较差的恶性眼内肿瘤, 以 GNAQ 和 GNA11 基因突变为特征, ES-Cu 可通过诱导 ROS 产生, 选择性激活大肿瘤抑制激酶 1, 促进 Yes 相关蛋白磷酸化并抑制其核内积累, 导致癌基因 SNAI2 表达下调, 从而抑制 GNAQ/11 突变型黑色素瘤细胞的生长与转移<sup>[78]</sup>。

CSC 与 TIC 同样是 ES-Cu 的作用靶点。Buccarelli 等<sup>[79]</sup>发现, ES-Cu 可诱导胶质母细胞瘤干细胞样细胞线粒体内 ROS 的快速积累并诱导细胞死亡, 增强替莫唑胺的体内活性。Harrington 等<sup>[80]</sup>发现, ES-Cu 可促进 TIC 中 ROS 积累并诱导氧化应激, 增强化疗药物卡铂的抗肿瘤活性, 抑制卵巢癌复发。有研究者认为, ES-Cu 诱导的 ROS 产生和细胞毒性可能部分归因于线粒体氧化磷酸化的解耦联或电子传递链活性的抑制<sup>[81]</sup>。ES-Cu 的抗癌机制也涉及铁死亡, Gao 等<sup>[82]</sup>发现, ES 可促进结肠直肠癌细胞中 ATP7A 的降解, 加剧线粒体内铜离子滞留, 诱导 ROS 积累与氧化应激; 此外, ES 还可通过促进溶质载体家族 7 成员 11 (SLC7A11) 的降解来抑制 GSH 合成, 从而诱导细胞铁死亡。

2022 年, Tsvetkov 等<sup>[4]</sup>证明 ES-Cu 诱导的铜死亡是一种全新的细胞死亡形式, 进一步阐明了 ES 的抗癌机制。母系胚胎亮氨酸拉链激酶 (MELK) 通过激活 PI3K/mTOR 信号通路, 提高 DLAT 表达水平, 加剧肝细胞癌进展, ES-Cu 可逆转这一过程, 诱导肝癌细胞铜死亡<sup>[83]</sup>。铜死亡与 RNA 修饰密切相关, Sun 等<sup>[84]</sup>发现, 甲基转移酶样蛋白 16 (methyltransferase-like protein 16, METTL16) 通过对 FDX1 mRNA 的 m<sup>6</sup>A 甲基化修饰来介导 ES-Cu 诱导的胃癌细胞铜死亡, METTL16 乳酸化水平升高可加剧

以上内容仅为本文档的试下载部分,  
为可阅读页数的一半内容。如要下载  
或阅读全文, 请访问:

[https://d.book118.com/8371121430  
54010003](https://d.book118.com/837112143054010003)