

Overview of Molecular Mechanisms of Copper Metabolism and Related Diseases

Hongyu Zhao Haoran Yu Wulong Jin

Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

Abstract

Copper is an important redox-active metal that plays a key role in respiration, antioxidant, tissue integrity, and synaptic functions. The copper content in the human body is in a dynamic balance, and changes in copper balance regulation may lead to the occurrence of various diseases. Therefore, the transportation of copper and the copper content in cells are strictly regulated. The paper reviews the existing knowledge on the mechanisms of cellular copper absorption, storage, and output, and also outlines two recognized genetic copper metabolism disorders: Wilson's disease and Menkes disease. Finally, it summarizes the current understanding of the link between copper and tumors and explores how to use copper death to address challenges in related fields.

Keywords

copper metabolism; Wilson disease; Menkes disease; cancer; cuproptosis

铜代谢分子机制及相关疾病概述

赵洪钰 于浩然 金武龙

内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

摘要

铜是一种重要的氧化还原活性金属, 在呼吸、抗氧化、组织完整性和突触功能中发挥着关键作用。人体内铜的含量处于一种动态平衡, 铜平衡调节的改变可能会导致多种疾病的发生, 因此铜的运输和细胞内的铜含量受到严格的调控。论文综述了细胞铜吸收、储存和输出机制的现有知识, 还概述已被公认的两遗传性铜代谢障碍疾病: 威尔逊病和门克斯病, 最后总结了目前对铜与肿瘤之间联系的理解并探讨了如何利用铜死亡来解决相关领域的挑战。

关键词

铜代谢; 威尔逊病; 门克斯病; 肿瘤; 铜死亡

1 引言

铜是人体内一种必需微量营养元素, 是多种生理活动的参与者, 是许多重要酶组成的关键^[1]。人体内正常含铜量为 100~200mg^[2], 日常饮食中铜的摄入主要来源于土豆、坚果、种子、豆类、牛肉、巧克力、贝壳和器官肉。大多数的成年人从每日饮食中获得足够的铜, 但孕妇应通过饮食摄入更多的铜^[3]。

2 铜代谢

人体内铜的吸收、储存、分布和输出受到精细的调节。铜主要通过小肠从食物中吸收, 细胞对铜的吸收依赖于铜转运体 1 (copper transport protein 1, CTR1) 和二价金属转运蛋白 (divalent metal transporter 1, DMT1)。食物中铜主要以二价形式存在, 前列腺六段跨膜上皮抗原 (six-segment

transmembrane epithelial antigen of prostate, STEAP1) 和十二指肠细胞色素 B (Duodenal cytochrome B, Dcyt B) 可将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ 后经 CTR1 运输至细胞。DMT1 可运输少数 Cu^{2+} 。 Cu^+ 经 CTR1 吸收后, 由铜转运蛋白质 α 链抗体 (ATPase copper transporting alpha polypeptide, ATP7A) 释放到门静脉中, 血液中可溶性伴侣可与铜结合, 如: 组氨酸、巨球蛋白、白蛋白和转铜蛋白^[4]。CTR1 将介导大部分新吸收的铜进入肝细胞, 肝细胞内多余的铜被铜转运蛋白质 β 链抗体 (ATPase copper transporting beta polypeptide, ATP7B) 以囊泡的形式分泌至胆汁^[5]。一些铜经过三种途径靶向不同的铜蛋白 (cuproproteins, CuPrs), 分别为: 线粒体、高尔基体和细胞质^[6]。环氧合酶 17 (cyclooxygenase 17, COX17) 往返于细胞质和线粒体管腔之间, 最后将铜传递至细胞色素 C 氧化酶 (cytochrome c oxidase, CCO)。抗氧化剂 1 铜伴侣蛋白 (antioxidant 1 copper chaperone, ATOX1) 将铜传至 ATP7A 和 ATP7B。反面高尔基体管网状结构 (trans-Golgi network, TGN) 上的 ATP7A/B 转运体有

【作者简介】赵洪钰 (1999-), 女, 中国内蒙古扎赉特旗人, 在读硕士, 从事头颈肿瘤研究。

助于将铜转运至各种 CuPrs 上,后被运输至特定的细胞器或分泌出细胞。在细胞质中,铜伴侣蛋白(copper chaperone for superoxide, CCS)介导铜的装载和超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, SOD1)的激活。若细胞内存在过量的游离铜离子将对细胞造成潜在毒性,所以必须通过金属硫蛋白(metallothionein, MT)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)等分子隔离。MT 它的表达可以通过增加的金属离子(如铜和锌)来诱导,能够螯合大量的铜,避免细胞毒性^[6]。GSH 是一种特异性抗氧化剂,谷胱甘肽通过螯合铜离子来缓冲过量的铜^[6]。

3 铜转运蛋白

3.1 CTR1

由 SLC31A1 编码的一种高亲和力铜转运蛋白。人的 CTR1 单体由 190 个氨基酸构成,其中 60 个氨基酸组成细胞外 N 段结构域,三个跨膜(transmembrane, TM)螺旋(TM1、TM2、TM3)形成一个孔,细胞内有一个 46 个氨基酸组成的环链接 TM1 和 TM2,最后 15 个氨基酸组成一个很短的细胞内 C 端结构域^[7]。功能性同源三聚体形式的 CTR1 位于质膜上,并形成一条供 Cu⁺ 离子通过的通道^[8]。CTR1 可在多种组织中表达,包括脉络丛、肾小管、卵巢和睾丸等。CTR1 的表达以铜依赖的方式调节,当细胞外铜含量过多时下调,铜含量过少时上调^[9]。据报道,在肠上皮细胞中沉默 CTR1 会诱导全身性铜缺乏,导致小鼠在断奶前死亡和共济失调。此外,先前的一项研究发现,CTR1 基因同源敲除会导致小鼠胚胎早期死亡^[10]。近十年来,多项研究证明 CTR1 与肿瘤生长及顺铂耐药有关^[11,12],鉴于此,靶向 CTR1 可能是提高顺铂抗肿瘤的一种新的策略。

3.2 ATP7A/B

ATP7A 位于染色体 Xq21.1。ATP7B 位于染色体 13q14.3 上。他们属于 P 型 ATP 酶家族,利用 ATP 水解的能量将铜跨膜转移。ATP7A 在大多数组织中表达,但是在肝脏除外。ATP7B 主要表达在肝脏中。ATP7A/B N 端部分包含 6 个 MBD,随后是 8 个跨膜结构域, P-domain、A-domain 和 N-domain 是 P 型 ATP 酶功能的核心。在基础或低铜时, TGN 是 ATP7A/B 定位和功能的主要位点,在高铜环境中, ATP7A/B 离开 TGN 定位于囊泡中,囊泡最终与质膜融合,这种铜调控 ATP7A/B 转运对细胞稳态意义重大。门克斯病和威尔逊病是已被公认的 ATP7A/B 突变导致遗传性铜代谢障碍。ATP7A/B 与顺铂耐药之间已经是癌症研究的一个热门话题。

4 铜代谢相关疾病

4.1 威尔逊病

威尔逊病(wilson disease, WD)又称肝豆状核变性,是一种常染色体隐性遗传病,以 ATP7B 基因的多种突变为特征,男性多于女性,一般发病年龄在 5~35 岁之间。

ATP7B 基因突变导致肝细胞内铜累积,WD 肝脏病变表现从无症状的肝酶水平升高到爆发性肝衰竭。神经系统症状在成年人中更为常见,但儿童早期也可观察到,首发表现中语言障碍最常见。其他神经症状包括:肌张力障碍、步态异常、震颤、帕金森等。WD 患者眼部可见 Kayser-Fleischer 环,临床表现为裂隙灯检查显示角膜周围有一个呈棕黄色或略带绿色的环。90% 以上的神经病变者存在 K-F 环,可认为是 WD 一个重要的诊断指标。精神症状也反映了中枢神经系统受累情况,大多数患者在发病初期有精神症状。其他表现包括肾脏、心脏、肌肉骨骼和内分泌疾病。临床诊断包括详细的病史和以肝脏、神经系统和精神系统为重点的体格检查。实验室评估包括肝脏生化和血清铜蓝蛋白水平及 24 小时基本尿铜排泄。金属硫蛋白免疫组化染色可提供肝实质铜水平信息。神经系统异常在磁共振成像中表现为基底神经节、顶叶、脊髓球茎、丘脑和脑干的 T2 高信号,约有 14% 患者出现“大熊猫脸”的迹象,其特征是中脑膜过度紧密。没有单一的检测可以可靠的诊断 WD,需要依赖多种生物标志物和参数组合。有研究发现血中 ATP7B 肽对 WD 的诊断具有较高的敏感性和特异性。WD 的治疗方法包括:第一,口服螯合剂。d-青霉胺为治疗 WD 的口服螯合剂,随后发明了曲恩汀,后者适用于 d-青霉胺不耐受者。这些螯合剂通过与血浆铜结合并随尿液排出而发挥作用。d-青霉胺会诱发神经系统恶化、皮疹、系统性红斑狼疮的风险。第二,锌盐治疗。锌盐通过减少肠道对铜的吸收。胃肠道反应是锌治疗的常见副作用。第三,应避免食用含铜量高的食物。第四,对于那些药物治疗失败或急性肝功能衰竭的患者,可以进行肝移植。无论使用任何药物,长期坚持治疗是重要的,因为坚持药物治疗的患者通常不会发生肝硬化,并且预期寿命正常。无症状患者中,坚持规律服药可以预防神经症状和肝功能衰竭。

4.2 门克斯病

门克斯病(Menkes disease, MD)又称卷发综合征,是一种影响铜代谢的 X 染色体隐性疾病,是由 ATP7A 基因突变引起的致命神经退行性疾病。通常发生在男性,发病率估计在 1/30 万。其特征是铜分布受损和几种铜依赖酶的功能障碍。临床表现主要为神经退行性病变和结缔组织病。患者通常在 3~6 个月大时被诊断出来,通常 3 岁之前死亡。家族成员中 MD 病史,如曾被确诊为 MD 的哥哥,叔叔或者堂兄弟,应在产前或新生儿期对婴儿进行诊断。MD 诊断是基于临床症状、生化指标,如血清中铜和铜蓝蛋白浓度水平降低。ATP7A 的直接测序有助于大多数 MD 患者诊断,但 MD 诊断的金标准为通过培养皮肤成纤维细胞可见有大量铜蓄积。神经影像学观察到大脑萎缩、颅内血管扭曲或扩大等。目前 MD 治疗方法为静脉注射铜组氨酸,在新生儿期开始治疗,可以一定程度上预防神经症状,改善病程。铜组氨酸皮下注射联合腺相关病毒载体定向纠正 ATP7A 基因表达在

MD小鼠模型中显示出有希望的结果。

4.3 肿瘤

在肿瘤细胞中，铜一直是值得人们研究的主题，多种肿瘤的发生发展途径与铜有关。乳腺癌、妇科、肺癌及血液恶性肿瘤等肿瘤组织及患者血清中铜浓度升高的现象较多^[1]。小鼠肿瘤模型经静脉注射⁶⁴CuCl₂后的PET已成功用于检测不同类型的肿瘤，包括头颈癌、黑色素瘤等^[1]。因此，异常Cu水平成为癌症治疗的新靶点。通过影响体内铜稳态治疗肿瘤有两种主要策略：通过含铜化合物或铜离子载体增加肿瘤细胞内的铜浓度；通过铜螯合剂降低肿瘤细胞内的铜浓度，如四硫钼酸盐、d-青霉胺和曲恩汀。Wang等证实双硫仑和铜靶向癌症干细胞可使抗放射软骨肉瘤对辐射敏感。Zhang等研究发现当ES和铜结合使用时，可以诱导结肠癌细胞死亡。

2022年Tsvetkov等发现一种新的细胞死亡方式——铜死亡。首先作者用不携带铜离子的ES无法独立诱导细胞死亡，利用目前已知细胞死亡方式抑制ES-Cu所引起的细胞死亡均未能成功。其次作者发现依赖线粒体呼吸的细胞对ES-Cu所引起细胞死亡敏感性更高。根据代谢物组学显示，细胞经ES-Cu处理后三羧酸循环代谢物含量增加。至此说明铜靶向干扰三羧酸循环。作者筛选得到与铜死亡相关的7个正向调控基因，包括：铁氧还蛋白（ferredoxin, FDX1）、硫辛酸合成酶等和3个负向调控基因。FDX1和蛋白脂酰化是铜离子载体诱导的细胞死亡决定性因素，FDX1是蛋白质脂酰化的上游调节因子。脂酰化蛋白质在哺乳动物体内仅发现四种，包括二氢硫辛酸转乙酰基酶（dihydrolipoamide S-acetyltransferase, DLAT）等。这些酶对于线粒体之间关系密切。铜直接与DLAT结合，促进酯化DLAT聚集，FDX1有助于毒性脂酰化的DLAT的积累和随后的细胞死亡。质谱分析还显示，铜离子载体处理导致Fe-S簇蛋白以FDX1依赖的方式丢失，并诱导蛋白质毒性应激。综上所述，铜死亡机制可以概括为：脂化蛋白聚集，Fe-S簇蛋白的损失，导致蛋白质毒性应激，最后细胞死亡。

5 展望

铜作为酶的催化和结构性辅助因子，对人体生命活动发挥重要作用。铜的吸收、分布、利用和排出在循环、组织和细胞水平上都受到严格调控。铜稳态的改变将引起疾病的发生，研究铜代谢相关蛋白及通路有助于对相关疾病认识和治疗，尤其在肿瘤方面。对于铜死亡，我认为有以下方面需进一步研究：①可能存在尚未发现的铜死亡相关蛋白；②对与已发现的铜死亡相关蛋白的研究可以有新的突破；③应具体针对不同类型肿瘤，考虑ES-Cu以哪种方式及剂量范围精准靶向肿瘤，将会带来怎样的副作用；④多项研究发现，肿瘤细胞顺铂耐药与血清中铜含量升高及铜转运蛋白ATP7A/B有关，铜死亡的发现是否能改善肿瘤细胞对于顺

铂的敏感程度改善患者预后，值得我们探究。

参考文献

- [1] Tsang T, Davis C I, Brady D C. Copper biology[J]. *Current Biology*, 2021,31(9):R421-R427.
- [2] Festa R A, Thiele D J. Copper: An essential metal in biology[J]. *Current Biology*, 2011, 21(21):R877-R883.
- [3] Ge EJ, Bush AI, Casini A, et al. Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia[J]. *Nat Rev Cancer*, 2022,22(2):102-113.
- [4] 刘鉴霄,刘旭升,王伟刚,等.铜稳态失调与消化系统肿瘤相关性的研究进展[J].*中国普外基础与临床杂志*,2023,30(9):1146-1152.
- [5] 王天城,杨旭龙,汤依萍,等.铜代谢相关蛋白及关联疾病研究进展[J].*福建医科大学学报*,2022,56(1):82-87.
- [6] Chen J, Jiang Y, Shi H, et al. The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases[J]. *Pflugers Arch*, 2020,472(10):1415-1429.
- [7] Walke G, Aupič J, Kashoua H, et al. Dynamical interplay between the human high-affinity copper transporter hCtr1 and its cognate metal ion[J]. *Biophys J*,2022,121(7):1194-1204.
- [8] Haberkiewicz O, Lipiński P, Starzyński RR, et al. Decreased Expression of the *Slc31a1* Gene and Cytoplasmic Relocalization of Membrane CTR1 Protein in Renal Epithelial Cells: A Potent Protective Mechanism against Copper Nephrotoxicity in a Mouse Model of Menkes Disease[J]. *Int J Mol Sci*,2022,23(19):11441.
- [9] Liu T, Liu Y, Zhang F, et al. Copper homeostasis dysregulation promoting cell damage and the association with liver diseases[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2023,136(14):1653-1662.
- [10] Guo S, Chen Z, Dong Y, et al. Chronic Corticosterone Exposure Suppresses Copper Transport through GR-Mediated Intestinal CTR1 Pathway in Mice[J]. *Biology (Basel)*,2023,12(2):197.
- [11] Yong L, Shi Y, Wu HL, et al. p53 inhibits CTR1-mediated cisplatin absorption by suppressing SP1 nuclear translocation in osteosarcoma[J]. *Front Oncol*, 2023,12:1047194.
- [12] Wang X, Lou Q, Fan T, et al. Copper transporter Ctr1 contributes to enhancement of the sensitivity of cisplatin in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Transl Oncol*, 2023,29:101626.
- [13] Zhou Y, Zhang L. The interplay between copper metabolism and microbes: in perspective of host copper-dependent ATPases ATP7A/B[J]. *Front Cell Infect Microbiol*,2023,13:1267931.
- [14] Dmitriev OY, Patry J. Structure and mechanism of the human copper transporting ATPases: Fitting the pieces into a moving puzzle[J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2024,1866(4):184306.
- [15] Ruturaj, Mishra M, Saha S, et al. Regulation of the apico-basolateral trafficking polarity of the homologous copper-ATPases ATP7A and ATP7B[J]. *J Cell Sci*, 2024,137(5):jcs261258.