

# 纳米材料诱导肿瘤细胞铜死亡的研究进展

何 扩<sup>1,2</sup>, 丁彬彬<sup>1</sup>, 马平安<sup>1,2</sup>, 林 君<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院长春应用化学研究所, 稀土资源利用国家重点实验室, 长春 130022;

2. 中国科学技术大学应用化学与工程学院, 合肥 230026)

**摘要** 纳米材料选择性诱导肿瘤细胞发生程序性细胞死亡(PCD)被视为一种很有前途的癌症治疗方法。铜死亡是一种最近被发现的由细胞内铜离子过载引起、以脂酰化线粒体酶的聚集和Fe-S蛋白质丢失为特征的全新的PCD模式。目前,多种纳米材料已被开发并用于诱导肿瘤细胞铜死亡,实现癌症治疗。大量的研究表明,将铜死亡与其它肿瘤治疗方式联合使用可取得更好的治疗效果,展现出巨大的潜力。本文综合评述了细胞铜死亡的相关机制及特征,总结和概括了纳米材料诱导的肿瘤细胞铜死亡策略及相关机制,重点分类概述了纳米材料诱导的铜死亡联合治疗的最新研究进展,并对这一新兴的肿瘤治疗方式的未来前景进行了总结和展望。

**关键词** 铜死亡; 程序性细胞死亡; 纳米材料; 肿瘤治疗

中图分类号 O614

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20230525

## Research Progress in Nanomaterial-induced Cuproptosis in Tumor Cells

HE Kuo<sup>1,2</sup>, DING Binbin<sup>1\*</sup>, MA Ping'an<sup>1,2\*</sup>, LIN Jun<sup>1,2\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Rare Earth Resource Utilization, Changchun Institute of Applied Chemistry,

Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China;

2. School of Applied Chemistry and Engineering, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

**Abstract** Nanomaterials are considered as promising cancer treatment materials by selectively inducing programmed cell death(PCD) of tumor cells. Cuproptosis is a newly discovered PCD pattern caused by intracellular copper ion overload, characterized by the aggregation of acylated mitochondrial enzymes and the loss of Fe-S proteins. Various nanomaterials have been developed to induce cuproptosis in tumor cells as a treatment for cancer. Numerous studies have demonstrated that cuproptosis achieves better anti-tumor effects when combined with other tumor therapeutic modalities, showing a great potential. This paper introduces the mechanisms and characteristics of cellular cuproptosis, outlines the strategies and mechanisms of nanomaterial-induced cuproptosis in tumor cells, focuses on classifying and outlining the recent research progress of nanomaterial-induced cuproptosis combination therapy, and looks forward to the future prospects of this emerging therapeutic modality.

**Keywords** Cuproptosis; Programmed cell death; Nanomaterial; Tumor treatment

收稿日期: 2023-12-26. 网络首发日期: 2024-02-21.

联系人简介: 林 君, 男, 博士, 研究员, 主要从事稀土荧光纳米材料的控制合成及在生物医学领域的应用研究. E-mail: jlin@ciac.ac.cn

马平安, 男, 博士, 研究员, 主要从事无机纳米材料及生物医学应用方面的研究. E-mail: mapa675@ciac.ac.cn

丁彬彬, 男, 博士, 副研究员, 主要从事纳米佐剂材料的控制合成及在生物领域的应用研究. E-mail: bbding@ciac.ac.cn

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(批准号: 20220101070JC, 20220508089RC, 20210402046GH)和国家自然科学基金(批准号: 52102354, 52102180, 52372273)资助.

Supported by the Science and Technology Development Planning Project of Jilin Province, China(Nos. 20220101070JC, 20220508089RC, 20210402046GH) and the National Natural Science Foundation of China(Nos. 52102354, 52102180, 52372273).

程序性细胞死亡(PCD)是指细胞基因决定的细胞主动有序的死亡方式,包括凋亡、坏死、焦亡、铁死亡及铜死亡等<sup>[1,2]</sup>.其中,铜死亡是一种最新发现的由细胞内铜离子过载引起的PCD方式.早在20世纪80年代,铜就被发现可以诱导细胞死亡,但其机制始终未被阐明<sup>[3]</sup>.直到2022年,Tsvetkov等<sup>[1]</sup>正式确定了铜诱导细胞死亡的机制,并将这种细胞死亡方式命名为“Cuproptosis”.铜死亡是一种由铜离子载体诱导、依赖于细胞中铜过度积累引发、以脂酰化线粒体酶的聚集和Fe-S蛋白质丢失为特征,且一系列已知的PCD抑制剂无法抑制的细胞死亡模式<sup>[1]</sup>.首先,通过铜离子载体将Cu<sup>2+</sup>离子转运至细胞内,在铁氧还蛋白1(FDX1)作用下将Cu<sup>2+</sup>离子还原为Cu<sup>+</sup>离子.FDX1还可与脂酰合成酶(LIAS)共同调控参与三羧酸循环(TAC)中二氢硫辛酰胺转乙酰基酶(DLAT,涉及TAC的蛋白)的脂酰化.然后转化生成的Cu<sup>+</sup>离子直接结合并诱导脂酰化DLAT的低聚,还可以诱导Fe-S簇蛋白[一类参与电子传递链(ETC)的蛋白]不稳定,导致TAC和ETC功能障碍,引起蛋白质毒性应激反应,最终导致铜死亡发生(图1)<sup>[4]</sup>.FDX1和脂酰化蛋白的丰度与人类肿瘤的多样性密切相关,具有高水平脂酰化蛋白质的细胞系对Cu诱导的细胞死亡更加敏感<sup>[1]</sup>,所以铜离子介导的铜死亡为肿瘤的治疗提供了一种全新的方式.

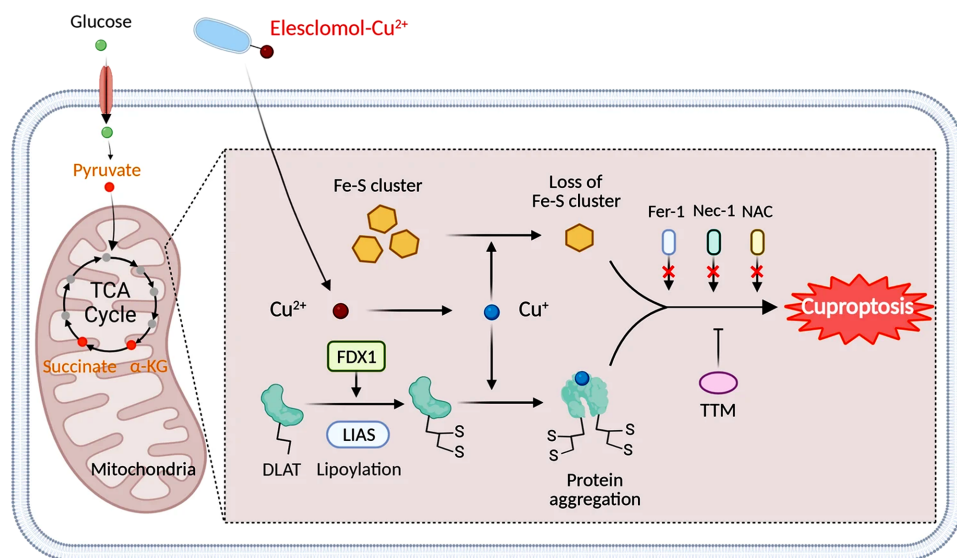


Fig. 1 Schematic model of cuproptosis<sup>[4]</sup>

Copyright 2022, Springer Nature.

然而,如何高靶向和高效率地诱导肿瘤铜死亡成为基于铜死亡的肿瘤治疗药物开发的关键.随着纳米技术的蓬勃发展,具有物理化学性质可调控特点的纳米药物被广泛研究<sup>[5]</sup>.相对于小分子、离子及蛋白等制剂,纳米药物具有肿瘤富集程度高、生物利用度高、毒副作用低及诊疗一体化等优势<sup>[6,7]</sup>.随着铜死亡机制的深入研究,通过纳米材料诱导肿瘤细胞铜死亡并用于肿瘤治疗的研究被广泛报道,铜死亡联合其它模式的治疗方法也受到越来越多的关注.

本文首先简要介绍了细胞铜死亡的相关机制和特征,然后对纳米材料诱导的肿瘤细胞铜死亡策略及相关机制进行了简要总结和概括,包括纳米材料通过调控肿瘤微环境(TME)和代谢过程影响铜死亡的效果.重点对纳米材料诱导的铜死亡联合治疗进行了分类概述,包括光动力治疗(Photodynamic Therapy, PDT)、化学动力治疗(Chemodynamic Therapy, CDT)、声动力治疗(Sonodynamic Therapy, SDT)、气体治疗(Gas Therapy, GT)、光热治疗(Photothermal Therapy, PTT)、细胞焦亡、铁死亡及免疫检查点治疗等在内的治疗方式均可以和铜死亡进行联合治疗.最后,对纳米药物介导的铜死亡在肿瘤治疗中的应用进行了总结和展望.

## 1 纳米材料诱导铜死亡策略

铜是细胞内的重要元素,铜的浓度稳态对细胞正常的生理活动有着至关重要的作用.在细胞中铜主要以Cu<sup>+</sup>离子与铜伴侣或非蛋白配体结合的形式存在,当细胞中需要Cu<sup>+</sup>离子时可以被转运释

放<sup>[1,8,9]</sup>。目前,基于纳米材料诱导肿瘤细胞发生铜死亡的治疗方法主要依赖于铜基纳米材料在TME低pH值及高谷胱甘肽(GSH)和高H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>刺激下释放铜离子,导致肿瘤细胞内铜离子超载,进而诱发肿瘤细胞铜死亡。Cu<sup>+</sup>离子在线粒体中的含量和其介导的铜死亡效果与TME和特异性代谢过程密切相关。因此,对TME和代谢过程的有效调控可以进一步调节铜死亡的效果<sup>[1]</sup>。例如,基于调控TME中GSH、氧气、葡萄糖的含量以及降低铜离子转出作用的方法均可有效增强肿瘤细胞对铜离子介导的铜死亡的敏感性,从而增强铜死亡的治疗效果。

GSH过表达是TME的重要特性之一。GSH不仅是细胞中的抗氧化剂,还是铜离子的螯合剂。因此,GSH可以消耗肿瘤细胞内的Cu<sup>+</sup>离子,进而降低铜死亡的效果<sup>[1,10,11]</sup>。降低肿瘤细胞中过表达的GSH含量可以有效增强铜死亡的治疗效果。Pi等<sup>[12]</sup>报道了一种由Cu<sup>2+</sup>离子介导甘草酸(GA)和去甲斑蝥素(NCTD)自组装而成的天然小分子无载体可注射水凝胶(NCTD Gel),在光照条件下NCTD Gel释放出的Cu<sup>2+</sup>离子可以通过氧化还原反应将GSH转化成氧化性谷胱甘肽,导致肿瘤细胞内的GSH含量显著下降。Huang等<sup>[13]</sup>报道了一种由丁硫亚砷亚胺(BSO)和过氧化氢酶(CAT)共负载且用十二烷基-β-D-麦芽糖苷(DDM)表面修饰的金属有机框架(MOF)-199纳米材料[BSO-CAT@MOF-199@DDM(BCMD)],其可以在酸性的TME中被降解,释放出来的BSO是一种有效的GSH合成阻断剂,可以显著降低TME中的GSH水平<sup>[14]</sup>。因此,通过外源性物质消耗GSH或阻断其合成可以有效降低TME中过量的GSH,进而减少对铜离子的螯合作用,以实现增强铜死亡的效果。

TME中低的氧气含量会降低线粒体ETC,尽管氧气不直接参与TAC过程,但通过改善肿瘤细胞的乏氧环境可以增强ETC,有利于尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)和氟硝苯胺(FAD)的生成,进而间接促进TAC循环。这种增强的TAC循环有利于提高铜离子介导的细胞死亡的敏感性<sup>[1,15]</sup>。NCTD Gel和BCMD分别通过释放Cu<sup>2+</sup>离子和过氧化氢酶(CAT)催化TME中过量的内源性H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生氧气,增强肿瘤细胞对铜死亡的敏感性,以增强铜死亡治疗效果<sup>[12,13]</sup>。此外,也可以通过将TME中的化学物质转化为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>或外源性提供H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>来提高肿瘤细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平<sup>[16-18]</sup>,同样有利于催化反应生成氧气,进而增强细胞对铜死亡的敏感性。

细胞中高浓度的铜会引发铜超载,从而促进铜死亡的发生<sup>[1]</sup>。因此,维持肿瘤细胞内高浓度的铜离子浓度有助于铜死亡治疗。细胞内铜含量的稳定主要依赖于高亲和性铜转运蛋白1(CTR1)将铜转运至细胞内部,以及铜转运磷酸化ATP酶(Cu ATPase)将铜转运出细胞<sup>[19-21]</sup>。纳米材料可以在肿瘤细胞中释放铜离子,从而引发铜超载并诱导铜死亡,但Cu ATPase对铜的排出会削弱这一过程。抑制Cu ATPase对铜离子的外排作用可以增强铜死亡效果<sup>[22]</sup>。为此,Ning等<sup>[23]</sup>开发了一种由血小板囊泡(PV)包被的氧化亚铜(Cu<sub>2</sub>O)和光敏剂(TBP-2)促铜死亡增敏系统(PTC),其可以通过产生羟基自由基(·OH)降低Cu ATPase活性,使得肿瘤细胞内铜离子浓度升高。此外,还有研究者尝试搭载一系列Cu ATPase的抑制剂或通过代谢调控影响Cu ATPase的活性来阻止铜离子外排<sup>[24,25]</sup>,以维持肿瘤细胞内高铜离子浓度环境,进而实现增强铜死亡治疗的效果。

肿瘤细胞在能量供应方面高度依赖线粒体糖酵解代谢。同时,肿瘤细胞铜死亡主要发生在线粒体中。因此,削弱肿瘤细胞内线粒体的能量供给可以增强对铜离子介导的铜死亡的敏感性,从而提升铜死亡治疗效果<sup>[26,27]</sup>。Xu等<sup>[27]</sup>设计了一种诱发肿瘤细胞铜死亡的聚合物纳米药物GOx@[Cu(tz)],该纳米药物由葡萄糖氧化酶(GOx)修饰的铜(I) 1,2,4-三氮唑{[Cu(tz)]}配位而成。GOx@[Cu(tz)]搭载的GOx可以消耗肿瘤细胞内的葡萄糖,使得糖代谢表型由糖酵解转向氧化磷酸化的比率提高,从而使细胞铜死亡的敏感性增高。

## 2 基于铜死亡的联合治疗

近年来,纳米材料因其诸多优势而被广泛用于肿瘤治疗的研究中,多种基于纳米材料的肿瘤治疗模式已被开发出来。其中PDT, CDT和SDT等治疗方法是通过纳米材料产生活性氧物种(ROS)来杀死肿瘤细胞,已取得显著的研究进展。肿瘤细胞内ROS的水平与焦亡和铁死亡密切相关,通过纳米材料

对肿瘤细胞内 ROS 水平的调控,可以在一定程度上诱发肿瘤细胞的焦亡和铁死亡<sup>[28,29]</sup>.此外,纳米材料也可以通过联合免疫检查点治疗、介导 GT 或 PTT 等途径杀伤肿瘤细胞.基于这些治疗策略的优势,并进一步联合铜死亡,可以实现不同的基于铜死亡的联合治疗(图 2).

## 2.1 PDT 联合铜死亡治疗

PDT 是临床批准的通过光照激发产生 ROS 来杀死肿瘤细胞的一种治疗方法,具有时空可控性、无创性及不良反应少等优点<sup>[30,31]</sup>.然而,由于有限的激发光穿透深度和肿瘤乏氧微环境等限制,其通常无法取得十分优良的治疗效果.通过诱导肿瘤细胞铜死亡,从而激活肿瘤细胞蛋白质毒性应激,可以弥补 PDT 单一治疗方法的局限.目前,已有许多将铜死亡与 PDT 联合以获得更优良的肿瘤治疗效果的工作被报道. Zheng 等<sup>[32]</sup>设计了一种具有线粒体靶向的光敏剂 CJS,该光敏剂可以与  $\text{Cu}^+$  离子选择性螯合,并通过自组装的方式形成 CJS-Cu 纳米颗粒(NPs),用于 PDT 调控的铜离子价态激活增强/协同铜死亡治疗[图 3(A)].在 TME 过量的  $\text{H}_2\text{O}_2$  和近红外光照的共同作用下, CJS-Cu NPs 释放出 CJS 和  $\text{Cu}^{2+}$  离子, CJS 产生大量超氧自由基( $\cdot\text{O}_2^-$ )[图 3(B)]. $\cdot\text{O}_2^-$  可以与  $\text{Cu}^{2+}$  离子反应生成  $\text{Cu}^+$  离子,同时还能促进 Fe-S 簇蛋白和 GSH 的消耗,从而激活和增强铜死亡过程[图 3(C)和(D)],最终达到优异的抗肿瘤效果[图 3(E)]. PTC 和  $\text{GOx}@[\text{Cu}(\text{tz})]$  都是通过 PDT 联合铜死亡的治疗模式. PTC 能够在酸性和高  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度的 TME 作用下快速释放铜离子,并与光敏剂 TBP-2 联合用于 PDT 和铜死亡的联合治疗[图 3(F)]<sup>[23]</sup>.在光照条件下, PTC 表现出更高的细胞杀伤能力[图 3(G)],这不仅是因为光照条件下 TBP-2 可以产生 ROS 杀伤肿瘤细胞,同时产生的  $\cdot\text{OH}$  还能抑制 Cu ATPase 活性,从而阻碍铜离子的外排[图 3(H)].同时,释放的铜离子导致肿瘤细胞内铜离子浓度升高,进而引发肿瘤细胞铜死亡[图 3(I)].这种疗法在活体动物实验中也同样表现出优异的抗肿瘤治疗能力[图 3(J)]. $\text{GOx}@[\text{Cu}(\text{tz})]$  具有对 GSH 响应的特性,在过表达 GSH 的 TME 中实现了铜离子和  $\text{GOx}$  的释放以及 GSH 的消耗,同时在光照条件下可以产生大量的  $\cdot\text{OH}$ ,以实现用于饥饿治疗增强的铜死亡并协同 PDT 的联合治疗[图 3(K)]<sup>[27]</sup>.释放的  $\text{GOx}$  将肿瘤细胞内的葡萄糖转化为葡糖酸,阻断细胞的能量供应,进一步增强了对肿瘤细胞的杀伤效果[图 3(L)],同时也增强了由于铜离子过载而引发的铜死亡过程[图 3(M)].这种治疗策略具有良好的抗肿瘤效果,其抑制肿瘤生长率达到 92.4%[图 3(N)和(O)].

## 2.2 CDT 联合铜死亡治疗

CDT 是一种利用 TME 的生化特性作为内源性刺激启动纳米药物的催化功能,通过只能在肿瘤内部发生的化学反应(主要包括芬顿/类芬顿反应),将无毒纳米药物或肿瘤细胞内的化学物质转化为剧毒 ROS,进而杀伤肿瘤细胞的治疗方法<sup>[33-35]</sup>.尽管肿瘤细胞相较于正常细胞具有更高的  $\text{H}_2\text{O}_2$  表达量,但肿瘤细胞内高水平的  $\text{H}_2\text{O}_2$  还不足以实现高效 CDT,其治疗效果受限于内源  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量<sup>[36]</sup>. $\text{Cu}^+$  和  $\text{Cu}^{2+}$  离子本身就是优良的类芬顿反应催化剂,并且与传统的铁基 CDT 催化剂相比,铜基催化剂在更宽的 pH 范围内具有更高的类芬顿催化活性<sup>[37,38]</sup>.因此,可以简单地通过铜离子介导 CDT 产生 ROS 协同铜死亡,实现联合治疗的目的,弥补 CDT 的局限.

Yu 等<sup>[39]</sup>开发了一种将  $\text{Cu}_2\text{O}$  纳米颗粒沉积在 ZIF-8 上的方法,并通过静电吸附作用将 DNA 装载的纳米药物(ZIF-8- $\text{Cu}_2\text{O}$ -DNA)用于铜死亡和 CDT 联合治疗[图 4(A)].在酸性的 TME 中, ZIF-8- $\text{Cu}_2\text{O}$ -DNA 释放出 DNA,  $\text{Zn}^{2+}$  离子和  $\text{Cu}^+$  离子.释放的 DNA 和  $\text{Zn}^{2+}$  离子能够结合形成 DNA 酶,进而剪切与 CAT 相关的 RNA,导致  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累.释放的  $\text{Cu}^+$  离子能够启动类芬顿反应产生 ROS[图 4(B)],同时部分  $\text{Cu}^+$  离子被氧化成  $\text{Cu}^{2+}$  离子,  $\text{Cu}^{2+}$  离子可以与 GSH 发生反应,以降低 TME 中的 GSH 含量,促进铜离子过载

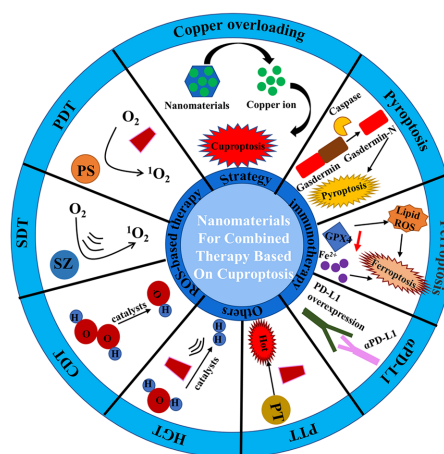


Fig. 2 Schematic diagram of combination therapy based on Cuproptosis

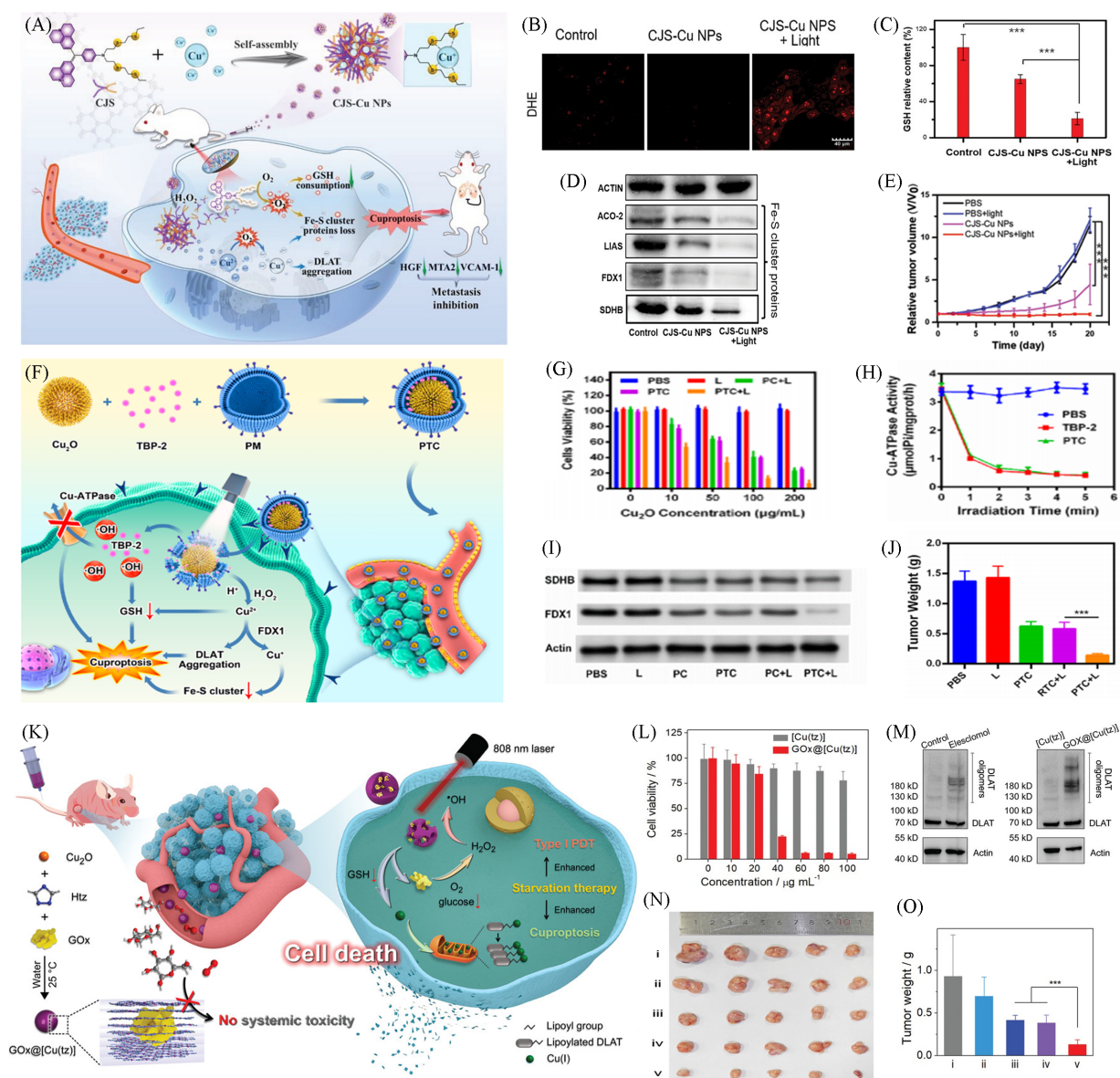
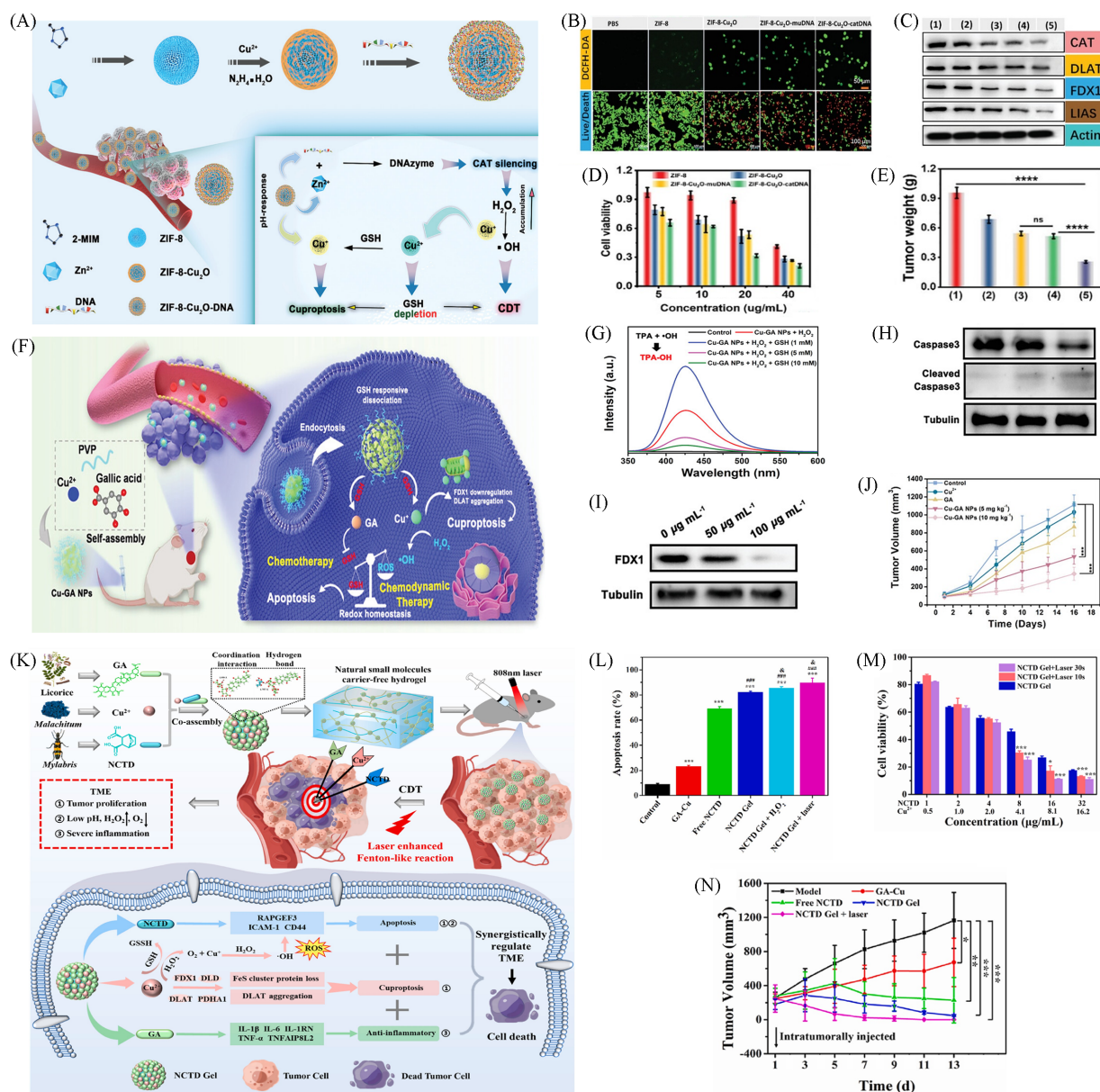


Fig. 3 Nanomaterials based on Cuproptosis for PDT combination therapy

(A) Schematic of the preparation of CJS-Cu NPs and the underlying mechanism of CJS-Cu NPs in cuproptosis tumor treatment; (B) detections of  $\cdot\text{O}_2^-$ ; (C) relative GSH contents in 4T1 cells after various treatments; (D) western blot analysis on the expressions of ACO-2, LIAS, and FDX1; (E) relative tumor volume change during the 20 d therapy<sup>[32]</sup>; (F) schematic illustration PTC loaded by the biomimetic system for tumor cuproptosis; (G) cell viability of cancer cell safter the indicated treatments with various  $\text{Cu}_2\text{O}$  concentrations; (H) changes in Cu-ATPase activity after indicated treatment under white light irradiation; (I) Fe-S cluster protein expression; (J) evolution of the tumor volume in mice after various treatments<sup>[23]</sup>; (K) schematic illustration of the synthesis of nonporous  $\text{GOx}@[\text{Cu}(\text{tz})]$  and the starvation-augmented cuproptosis and photodynamic synergistic therapy without producing systemic toxicity; (L) the viability of MCF-7 cells treated with  $[\text{Cu}(\text{tz})]$  and  $\text{GOx}@[\text{Cu}(\text{tz})]$  at different concentrations for 24 h in the dark; (M) oligomerization analysis of DLAT after different treatments; (N, O) photographs of mice tumors (N) and the weight (O) of excised tumors after treatments with PBS (i),  $[\text{Cu}(\text{tz})]$  (ii),  $[\text{Cu}(\text{tz})]/\text{laser}$  (iii),  $\text{GOx}@[\text{Cu}(\text{tz})]$  (iv) and  $\text{GOx}@[\text{Cu}(\text{tz})]/\text{laser}$ <sup>[27]</sup>.  
(A—E) Copyright 2023, Wiley-VCH; (F—J) Copyright 2023, American Chemical Society; (K—O) Copyright 2022, Wiley-VCH.

引发的铜死亡过程。相关的蛋白质电泳图[图 4(C)]证实了铜死亡的发生和 CAT 表达量的下调。这种纳米药物通过联合治疗表现出十分强烈的细胞杀伤效果[图 4(D)], 并且在动物实验中取得了良好的抗肿瘤效果[图 4(E)]. Zhao 等<sup>[40]</sup>研发了一种金属-酚类网络纳米颗粒(Cu-GA NPs), 该纳米颗粒由铜离子和没食子酸(GA)自组装而成, 可以诱导肿瘤细胞发生凋亡和铜死亡, 并且能够协同化疗和 CDT [图 4(F)]. Cu-GA NPs 进入肿瘤细胞后, 被过表达的 GSH 刺激释放出 GA 和  $\text{Cu}^+$  离子。其中, GA 可以消



**Fig. 4** Nanomaterials based on Cuproptosis for CDT combination therapy

(A) Schematic illustration of the preparation for ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O-DNA and the mechanism of cascade reactions for cuproptosis and chemodynamic therapy; (B) confocal images of intracellular ROS of PANC-1 cells treated with different composition nanomedicine (Scale bar: 50 μm) and the imaging of PANC-1 cells costained by calcein-AM and PI under various treatments (20 μg/mL, scale bar: 100 μm); (C) western blot analysis of CAT, DLAT, FDX1, and LIAS expression levels in PANC-1 cells after different treatments (ZIF-8, ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O, ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O-mu-DNA, and ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O-cat-DNA, respectively); (D) MTT viability assessment of PANC-1 cells treated with different concentrations of ZIF-8, ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O, ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O-mu-DNA, and ZIF-8-Cu<sub>2</sub>O-cat-DNA, respectively, for 24 h; (E) photographs of tumor tissues in different groups after 12 d of treatment<sup>[39]</sup>; (F) schematic diagram of Cu-GA NPs synthesis process and the Cu-GA NPs mediated chemo/chemodynamic synergistic therapy of tumors; (G) TPA assay of Cu-GA NPs under different treatments (TPA as the ·OH trapping agent); (H) western blot analysis on the expressions of Caspase 3 and cleaved Caspase 3; (I) western blot analysis on the expressions of FDX1; (J) time-course change in the 4T1 tumor volume after different treatments, n=5<sup>[40]</sup>; (K) schematic illustration of NCTD Gel's self-assembly mechanism and synergistically regulate the tumor microenvironment *via* apoptosis, cuproptosis and anti-inflammation; (L) flow cytometric analysis of HepG2 cells apoptosis induced by different treatments with Annexin V-FITC/PI staining; (M) cell viability of HepG2 cells treated with a series concentration of NCTD Gel + laser at different time (1.0 W/cm<sup>2</sup>) for 72 h; (N) curves of tumor growth volume during the treated process<sup>[12]</sup>.

(A—E) Copyright 2023, Wiley-VCH; (F—J) Copyright 2023, Wiley-VCH; (K—N) Copyright 2023, Elsevier.

耗过量的GSH,  $\text{Cu}^+$ 离子可以发生类芬顿反应产生 $\cdot\text{OH}$ [图4(G)]. 这将导致肿瘤细胞内氧化还原平衡被破坏, 从而促进凋亡的发生[图4(H)]. 同时, GSH的消耗也会减弱铜离子被螯合的程度, 从而增强肿瘤细胞铜死亡过程[图4(I)]. 在动物实验中, 该方法有效抑制了肿瘤生长[图4(J)]. 类似地, NCTD Gel也可被用于铜死亡、PDT和CDT协同治疗[图4(K)]<sup>[12]</sup>. NCTD Gel进入肿瘤细胞内释放 $\text{Cu}^{2+}$ 离子和NCTD. 释放的 $\text{Cu}^{2+}$ 离子不仅可以诱发铜死亡, 还可以作为类芬顿反应的活性中心产生 $\cdot\text{OH}$ 和消耗GSH以增强铜死亡. 而释放的NCTD具有诱导细胞凋亡的作用<sup>[41]</sup>, 并且类芬顿反应生成的ROS可进一步增强细胞凋亡, 以实现协同治疗[图4(L)]. 此外, 在808 nm近红外光照射下类芬顿反应活性可以进一步提高, 从而增强CDT疗效以实现更强的肿瘤细胞杀伤能力[图4(M)], 并且在动物实验中也取得了良好的治疗效果[图4(N)].

### 2.3 SDT联合铜死亡治疗

SDT是通过超声波敏化声敏剂产生ROS、热量或机械损伤以杀死细胞的一种非侵入性的治疗模式<sup>[42,43]</sup>. 与PDT相比, SDT具有更好的组织穿透性, 但在深部组织中的治疗效果依然有限. 此外, 肿瘤的特异性代谢和缺氧的TME阻碍了SDT的治疗效果, 使其无法产生足够的ROS来杀死肿瘤细胞<sup>[44,45]</sup>. 铜死亡可以通过ROS积累及蛋白质毒性应激和代谢调节、增强SDT的效果. Chen等<sup>[46]</sup>设计了一种由全氟化碳和声敏剂Ce6包裹的铜掺杂的ZIF-8, 并采用巨噬细胞膜伪装, 最后负载氧气制备了纳米载体(SonoCu), 并用于铜死亡增强的SDT[图5(A)]. SonoCu通过巨噬细胞膜伪装可以靶向肿瘤细胞, 进入肿瘤细胞后, 在超声波的刺激下, 可以高效释放出大量的 $\text{Cu}^{2+}$ 离子[图5(B)], 释放的 $\text{Cu}^{2+}$ 离子消耗GSH并诱发铜死亡; 同时,  $\text{O}_2$ 在肿瘤细胞中选择性地释放, 以缓解肿瘤细胞缺氧环境, 增强肿瘤细胞对铜离子介导的铜死亡敏感性[图5(C)]. 此外, Ce6释放并在超声作用下生成ROS激活细胞凋亡, 并且铜死亡过程中导致的线粒体功能障碍又会增强凋亡, 所以凋亡协同铜死亡治疗将进一步提高肿瘤细胞杀伤能力[图5(D)], 并在小鼠体内取得了良好的抗肿瘤效果[图5(E)].

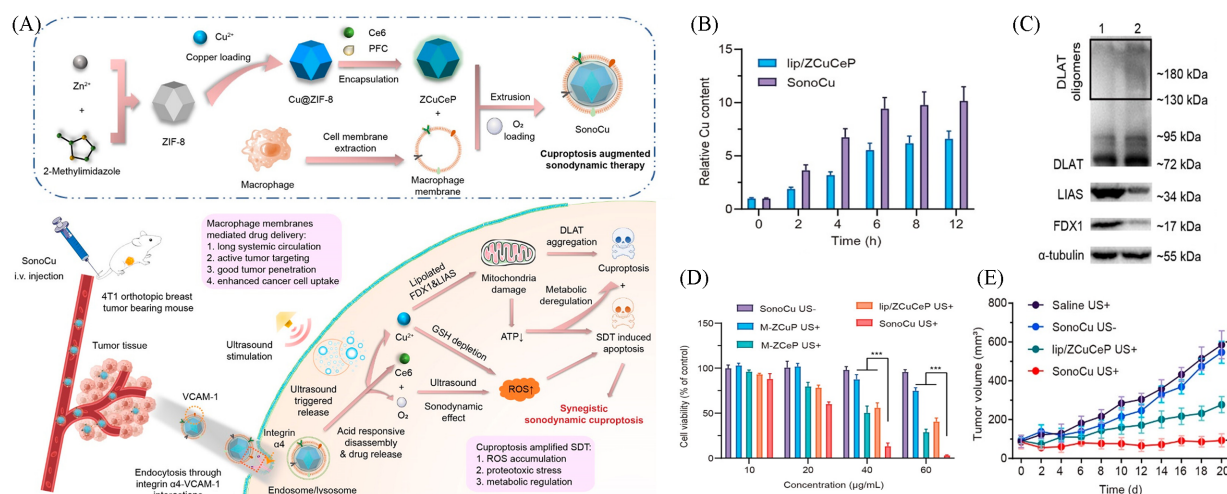


Fig. 5 Nanomaterials based on Cuproptosis for SDT combination therapy<sup>[46]</sup>

(A) Schematic illustration of the preparation of SonoCu and the mechanism of cascade reactions for synergistically triggering cuproptosis-augmented SDT; (B) measurement of intracellular levels of Cu by ICP-MS after treating with SonoCu for 12 h; (C) western blot analysis of the expressions of DLAT, LIAS, and FDX1 in 4T1 cells after treating with SonoCu plus ultrasound irradiation; (D) *in vitro* anticancer effects of SonoCu against 4T1 cancer cells under normoxia[4T1 cells were incubated with different concentrations of M-ZCuP(SonoCu without Ce6), M-ZCeP(SonoCu without  $\text{Cu}^{2+}$ ), lip/ZCuCeP, or SonoCu under normoxia for 6 h, followed by treating with ultrasound(1 W/cm<sup>2</sup>, 1 MHz at 0.45 MPa) for 3 min, the cell viability was determined by MTT assay after a 24 h treatment. SonoCu without ultrasound stimulation was set as the control]; (E) tumor growth curves of 4T1 tumor bearing mice after the treatment of SonoCu[4T1 tumor bearing mice were intravenously treated with saline, lip/ZCuCeP, or SonoCu(8 mg/kg) every 2 d, seven times, followed by ultrasound stimulation (1 W/cm<sup>2</sup>, 1 MHz at 0.45 MPa) for 3 min 12 h post injection, the tumor growth was monitored for 20 d].

Copyright 2023, American Chemical Society.

## 2.4 细胞焦亡联合铜死亡治疗

细胞焦亡是由 Caspase 激活且依赖于 Gasdermins 蛋白家族成员形成细胞质膜膜孔的可调控的程序性细胞死亡<sup>[47-49]</sup>。细胞焦亡发生时,会导致细胞肿胀、鼓泡,之后细胞膜上形成孔隙,使细胞膜失去完整性,释放细胞内容物和炎症因子[如白介素  $1\beta$  (IL- $1\beta$ )、白介素 18 (IL-18)、高迁移率族蛋白 1 (HMGB1),三磷酸腺苷 (ATP) 及乳酸盐脱氢酶 (LDH) 等],引起局部炎症反应,同时伴随着细胞核固缩和 DNA 断裂<sup>[50,51]</sup>。最近的研究发现,在细胞发生焦亡早期,会伴随线粒体损伤的发生<sup>[52]</sup>。而铜死亡会导致线粒体功能受损,这可能暗示着细胞焦亡与铜死亡存在一定的关联。此外,铜离子可以作为类芬顿反应的催化剂产生 ROS,造成细胞内氧化应激状态的紊乱,促使细胞发生焦亡。研究发现,铜死亡结合焦亡可以有效激活机体免疫反应,进一步增强铜死亡治疗效果。Zhao 等<sup>[22]</sup>开发了一种  $H_2S$  响应的羟基磷酸铜纳米颗粒 [ $Cu_2(PO_4)(OH)$  NPs],并用于基于铜死亡的焦亡联合治疗[图 6(A)]。

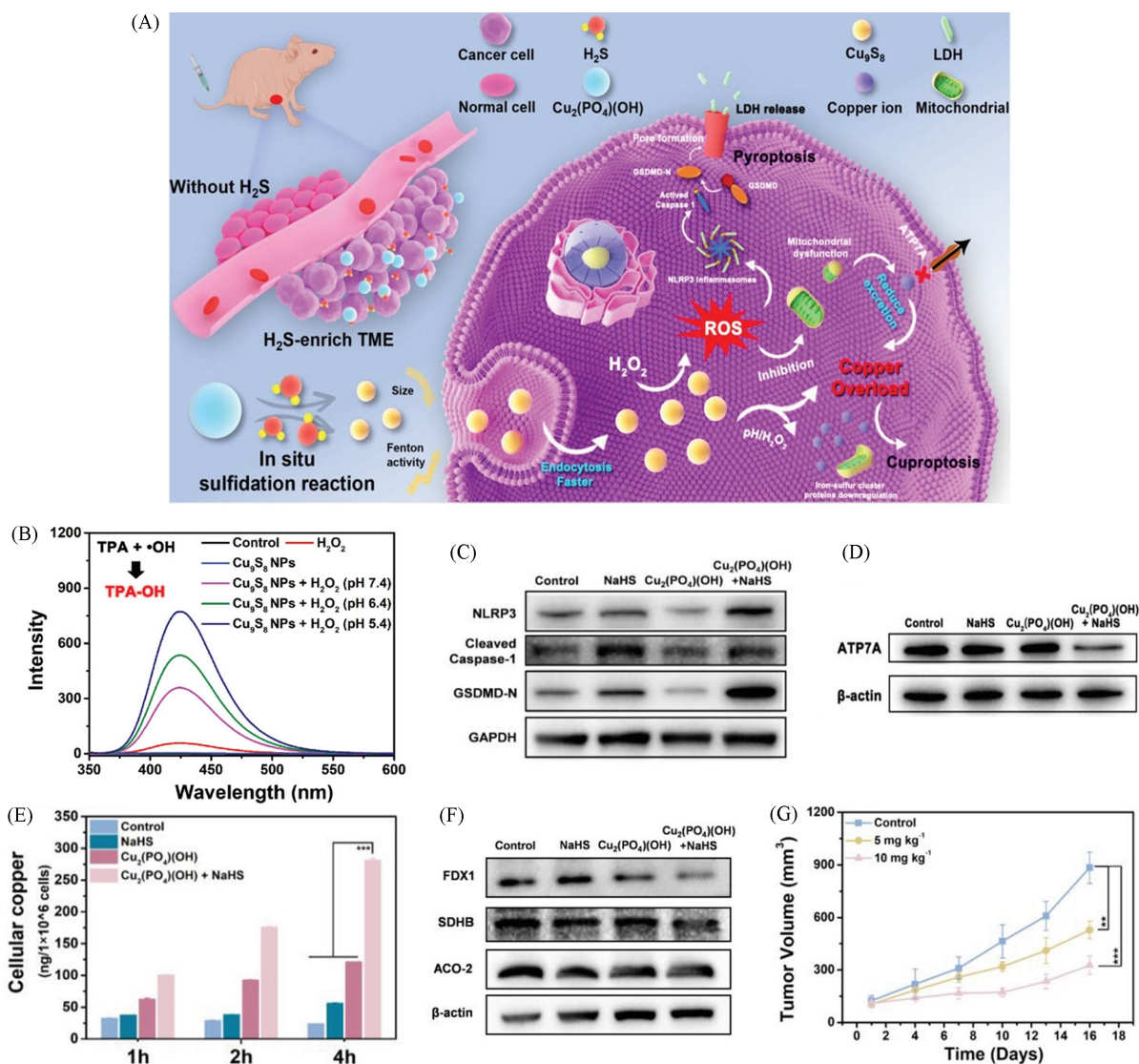


Fig. 6 Nanomaterials based on Cuproptosis for pyroptosis combination therapy<sup>[22]</sup>

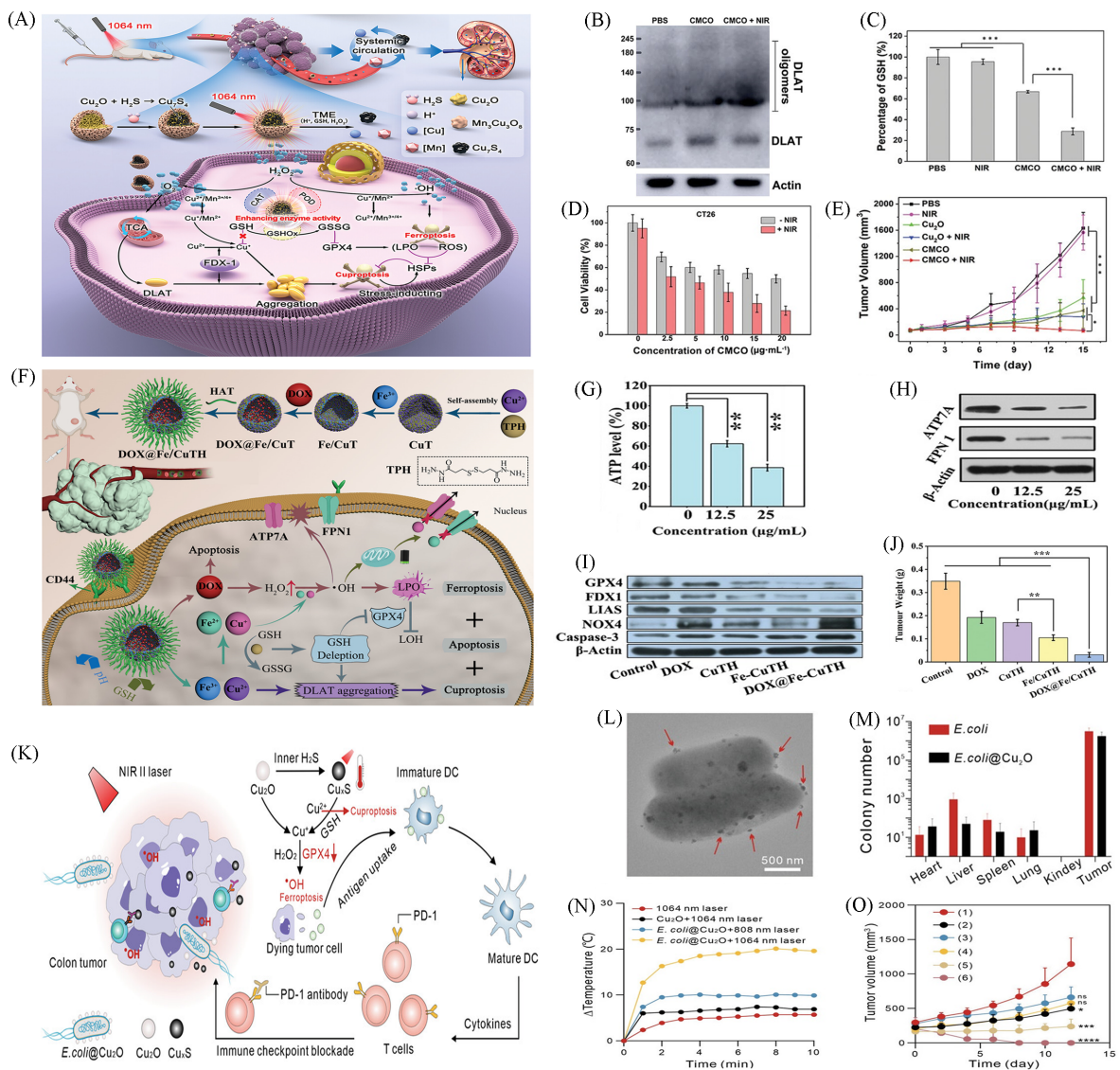
(A) Schematic illustration of  $Cu_2(PO_4)(OH)$  NPs serve as the copper homeostasis disrupter for tumor selective therapy based on copperoverload-mediated cuproptosis and pyroptosis; (B) TPA assay of  $Cu_9S_8$  NPs under different treatments with TPA as the  $\cdot OH$  trapping agent; (C) western blot analysis on the expressions of NLRP3, cleaved Caspase-1, and GSDMD-N; (D) western blot analysis on the expressions of ATP7A; (E) the intracellular copper levels of HCT116 cells under different conditions for 1, 2, and 4 h,  $n=3$ ; (F) western blot analysis on the expressions of FDX1, SDHB, and ACO-2; (G) time-dependent HCT116 tumor growth curves after different treatments,  $n=5$ .

Copyright 2023, Wiley-VCH.

$\text{Cu}_2(\text{PO}_4)(\text{OH})$  NPs 在结肠癌肿瘤细胞过表达的  $\text{H}_2\text{S}$  作用下将转化为更小尺寸的  $\text{Cu}_9\text{S}_8$  NPs, 这种尺寸的减小加速了纳米颗粒的细胞内吞作用, 从而促进其更快速地进入肿瘤细胞内部[图 6(B)]. 在 TME 的酸性条件下,  $\text{Cu}_9\text{S}_8$  NPs 表现出显著的类芬顿反应催化活性, 产生大量的 ROS, 有效杀伤肿瘤细胞. 肿瘤细胞内 ROS 水平的提升进一步激活了 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡信号通路, 导致 GSDMD 裂解并生成 GSDMD-N, 该裂解片段在细胞膜上形成孔洞, 引发细胞焦亡[图 6(C)]. 同时, 过量的 ROS 还会导致线粒体的功能障碍, 并下调铜输出蛋白 ATP7A, 减少铜离子的外排[图 6(D)]. 在提高细胞摄取效率、增强铜离子释放以及减少铜离子外排的共同作用下, 细胞维持了较高水平的铜含量[图 6(E)], 激活了更强烈的肿瘤细胞铜死亡[图 6(F)], 最终取得了优良的抗肿瘤效果[图 6(G)]. Qiao 等<sup>[53]</sup>设计了一种基于铜酞(CQ)的纳米酶材料, 该材料以  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  作为前驱体, 在水介质中成功合成. 在合成过程中, 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)被用作稳定剂和分散剂, 有效调控了 CQ 纳米酶的形貌和尺寸. 没食子酸(GA)在碱性条件下转化成相应的酞结构, 与配体喹啉酮共同作用于铜离子, 促成了 CQ 纳米酶的形成. 此外, 他们还采用(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷(APTES)对合成的 CQ 纳米酶进行表面氨基化修饰, 修饰后的 CQ 纳米酶与 GOx 通过共价键连接, 生成了最终的复合纳米材料(CQG NPs), 用于激活焦亡和铜死亡联合免疫治疗. CQG NPs 进入肿瘤细胞后, 能够模拟谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和 CAT, 消耗细胞内的 GSH 并生成氧气, 有效缓解肿瘤细胞的低氧环境. 此过程可抑制缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )的表达, 进而降低醌氧化还原酶(NQO1)和核因子红细胞 2 蛋白(NRF2)的水平, 破坏肿瘤细胞的抗氧化防御机制. 同时, CQG NPs 还具备超氧化物歧化酶(SOD)和类过氧化物酶(POD)的活性, 能够催化产生大量的 ROS. 这些过量的 ROS 与载体 GOx 协同作用, 通过消耗葡萄糖实现饥饿治疗, 共同激活 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡信号通路, 导致细胞焦亡. 此外, 在肿瘤微环境中, CQG NPs 释放出大量铜离子, 诱导肿瘤细胞发生铜死亡. 上述过程中 GSH 含量的减少、氧气含量的升高以及饥饿治疗均会增强肿瘤细胞对铜死亡的敏感性, 从而放大铜死亡的治疗效果. 这种联合诱导焦亡和铜死亡的治疗策略在小鼠模型上展现了显著的抗肿瘤效果, 为肿瘤治疗提供了一种全新的联合治疗方法.

## 2.5 铁死亡联合铜死亡治疗

铁死亡是铁介导且依赖于脂质活性氧物种积累导致质膜氧化损伤破裂的可调控的程序性细胞死亡, 其特征为谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPx4)失活和脂质的过氧化<sup>[54-56]</sup>. 最近的研究发现, 铜离子能够促进 GPx4 的聚合, 并被自噬体识别、降解, 从而驱动细胞发生铁死亡, 并且铜离子能够增强诱导铁死亡药物的抗肿瘤效果<sup>[57]</sup>. 此外, 一些铁死亡诱导剂通过抑制线粒体基质相关蛋白酶介导的 FDX1 降解上调蛋白脂酰化水平, 并抑制胱氨酸输入以减少细胞内铜螯合剂 GSH 的合成, 最终增强铜依赖的脂酰化蛋白聚集, 从而增强肿瘤细胞铜死亡<sup>[58]</sup>. 因此, 将铁死亡与铜死亡联合治疗, 会显著提升抗肿瘤治疗效果. Chen 等<sup>[59]</sup>以  $\text{KMnO}_4$  为锰源, 在  $\text{Cu}_2\text{O}$  表面原位生成  $\text{Mn}_3\text{Cu}_3\text{O}_8$  壳层, 合成了具有 TME 响应的多功能核壳纳米酶  $\text{Cu}_2\text{O}@\text{Mn}_3\text{Cu}_3\text{O}_8$  (CMCO) 并用于光热治疗诱导的铁死亡增强的铜死亡联合治疗[图 7(A)]. CMCO 进入结肠癌细胞后, 由于铜离子与锰离子氧化电对的存在赋予了 CMCO 类谷胱甘肽氧化酶(GSHox)和类 POD 活性, 可以将肿瘤细胞中过表达的 GSH 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  转化为 GSSG 与  $\cdot\text{OH}$ , GSH 的耗尽与 ROS 的生成使得 GPx4 失活, 进而引发肿瘤细胞铁死亡. 同时, CMCO 还具有类 CAT 活性, 可以将  $\text{H}_2\text{O}_2$  转化生成  $\text{O}_2$ , 从而缓解肿瘤缺氧状态. 氧气含量增加和 GSH 含量减少将有效增强肿瘤细胞对 CMCO 介导的铜死亡的敏感性, 以实现高效的铜死亡治疗[图 7(B)]. 在结肠癌组织高  $\text{H}_2\text{S}$  的环境下, CMCO 中的  $\text{Cu}_2\text{O}$  部分转化为  $\text{Cu}_7\text{S}_4$ , 部分硫化的 CMCO 经过适度的光热加热可以显著增强模拟酶活性, 增强杀伤细胞能力[图 7(C)和(D)]. 这种光热治疗诱导的铁死亡增强的铜死亡联合治疗在动物实验中取得了优异的治疗效果, 显著抑制了肿瘤生长[图 7(E)]. Xu 等<sup>[60]</sup>则采用  $\text{Cu}^{2+}$  离子与 3,3'-二硫代双丙酰肼(TPH)自组装, 再通过与  $\text{Fe}^{3+}$  的配位结合以及阿霉素(DOX)负载, 最后用透明质酸(HAT)修饰, 得到了复合纳米颗粒  $\text{DOX}@\text{Fe}/\text{CuTH}$  (HaMOF) 并用于铜死亡/铁死亡/凋亡的联合抗癌治疗[图 7(F)]. HaMOF 具有 pH 和 GSH 双响应特性, 在肿瘤细胞中发生解离, 释放的 DOX 会诱导细胞发生凋亡, 并进一步增强肿瘤  $\text{H}_2\text{O}_2$  表达; 释放的  $\text{Cu}^{2+}$  离子和  $\text{Fe}^{3+}$  离子能够与 GSH 反应并降低其含量, 反应生成的



**Fig. 7** Nanomaterials based on Cuproptosis for Ferroptosis combination therapy

(A) The mechanism of high efficiency ferroptosis-boostered-cuproptosis induced by mild-photothermal effect based on  $\text{Cu}_2\text{O}@Mn_3Cu_3O_8$  nanozymes for colorectal cancer therapy; (B) western blot of DLAT and DLAT oligomers after different treatments; (C) the contents of intracellular of GSH on CT26 with different treatments; (D) cytotoxicity assessment on CT26 cells treated with different concentration of CMCO nanozymes with or without 1064 nm laser irradiation; (E) the tumor growth curves of CT26 tumor-bearing mice after different treatments with intratumor injection<sup>[59]</sup>; (F) schematic illustration of the fabrication process of DOX@Fe/CuTH HaMOF and its application as an oxidative stress amplifier and copper/iron metabolic disrupter for synergistic cuproptosis/ferroptosis/apoptosis antitumor therapy; (G) intracellular ATP levels of 4T1 cells after treatment with different concentrations of DOX@Fe/CuTH; (H) intracellular FPN 1 and ATP7A expression levels of 4T1 cells after treatment with different concentrations of DOX@Fe/CuTH; (I) western blot analysis on the expressions of GPX4, FDX1, LIAS, NOX4, and caspase-3; (J) average weights of the excised tumors<sup>[60]</sup>; (K) schematic description of *E. coli@Cu<sub>2</sub>O* microbial nanohybrid for boosting of antitumor immune responses through tumor microenvironment-activatable NIR-II PTT enhanced ferroptosis and cuproptosis; (L) TEM image of *E. coli@Cu<sub>2</sub>O*, Arrows indicate the attached  $\text{Cu}_2\text{O}$  nanoparticles; (M) quantification of *E. coli* colonization in tumors and major organs harvested from MC38-bearing mice at 24 h after injection of *E. coli* or *E. coli@Cu<sub>2</sub>O*; (N) temperature changes of mice injected with various formulas under laser illumination ( $1 \text{ W/cm}^2$ ); (O) tumor growth curves of MC38 tumor-bearing mice with various treatments, PBS without laser irradiation (group 1), PBS with 1064 nm laser irradiation (group 2, 1064 nm laser), *E. coli* without laser irradiation (group 3, *E. coli*),  $\text{Cu}_2\text{O}$  with 1064 nm laser irradiation (group 4,  $\text{Cu}_2\text{O} + 1064 \text{ nm laser}$ ), *E. coli@Cu<sub>2</sub>O* with 808 nm laser irradiation (group 5, *E. coli@Cu<sub>2</sub>O* + 808 nm laser), and *E. coli@Cu<sub>2</sub>O* with 1064 nm laser irradiation (group 6, *E. coli@Cu<sub>2</sub>O* + 1064 nm laser)<sup>[61]</sup>.

(A—E) Copyright 2023, Wiley-VCH; (F—J) Copyright 2022, Wiley-VCH; (K—O) Copyright 2023, Wiley-VCH.

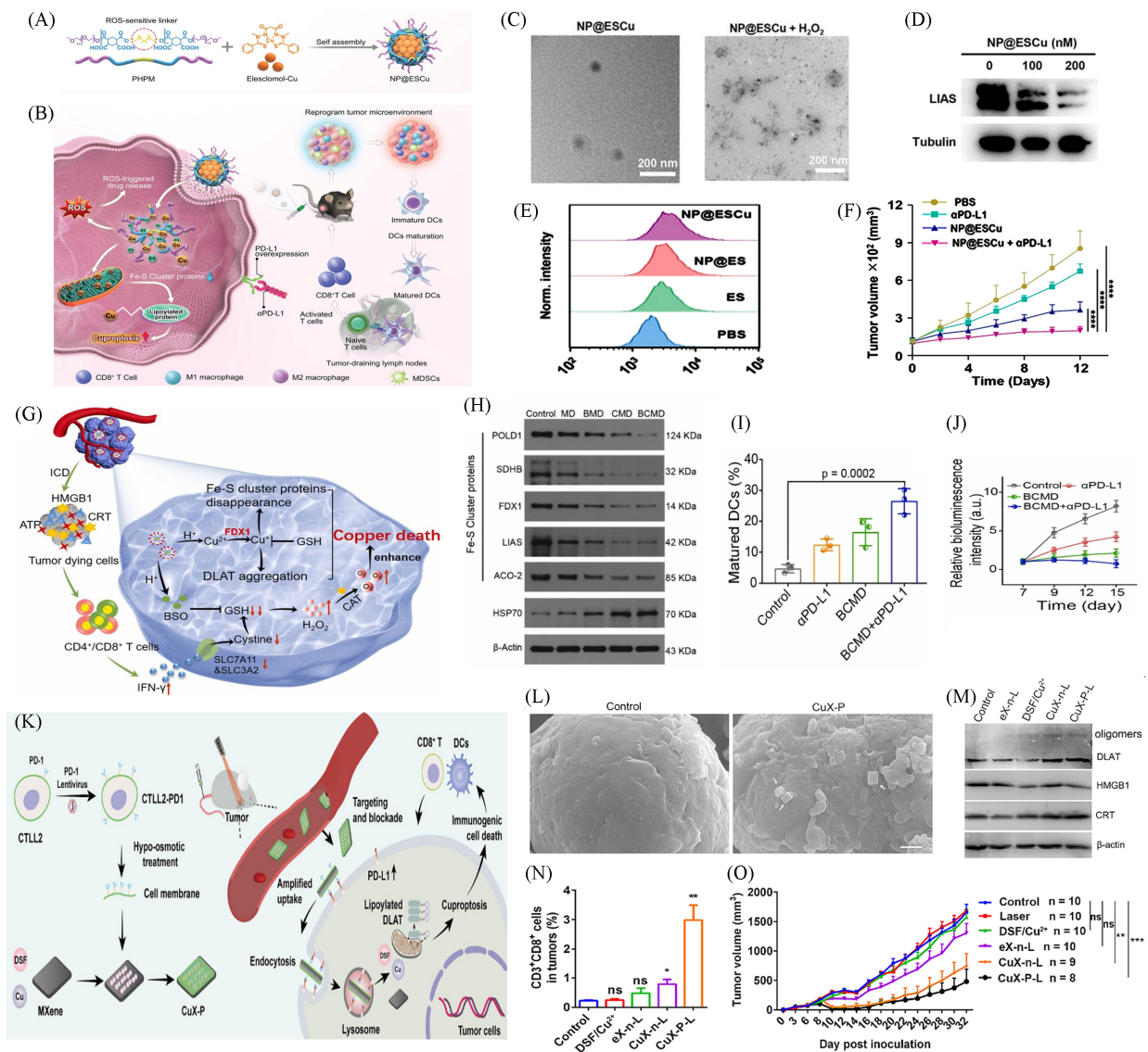
$\text{Cu}^+$ 离子和 $\text{Fe}^{2+}$ 离子可以催化TME中的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 产生 $\cdot\text{OH}$ 。在肿瘤细胞内ROS水平提升和GSH消耗的共同作用下,诱发肿瘤细胞发生铁死亡。此外,生成的 $\cdot\text{OH}$ 将降低细胞内ATP的水平以及下调铁转运蛋白(FPN 1)和ATP7A的表达[图7(G)和(H)],以维持细胞内更高的铁离子与铜离子的浓度,引发更强烈的铁死亡/铜死亡。相关细胞死亡蛋白检测表明HaMOF诱发了铜死亡和焦亡,并且使得酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶4(NOX4)显著上调,这将加剧铁死亡过程[图7(I)]。这种铜死亡联合铁死亡和凋亡的治疗策略表现出显著的抗肿瘤治疗效果[图7(J)]。类似地,Ruan等<sup>[61]</sup>制备了一种 $\text{Cu}_2\text{O}$ 纳米颗粒负载的大肠杆菌(*E. coli*)微生物纳米杂化物(*E. coli*@ $\text{Cu}_2\text{O}$ )用于铁死亡和铜死亡联合的结肠癌治疗[图7(K)]。在透射电子显微镜下可以看出, $\text{Cu}_2\text{O}$ 纳米颗粒强烈吸附在*E. coli*表面[图7(L)],进而赋予纳米材料靶向肿瘤细胞的能力[图7(M)]。进入肿瘤细胞后, $\text{Cu}_2\text{O}$  NPs可以发生类芬顿反应产生 $\cdot\text{OH}$ ,同时在结肠癌高 $\text{H}_2\text{S}$ 浓度环境下 $\text{Cu}_2\text{O}$ 部分转化为 $\text{Cu}_x\text{S}$ , $\text{Cu}_x\text{S}$ 又能消耗GSH,降低GPX4活性,诱发铁死亡发生。此外,GSH的消耗会减少铜离子的螯合作用,进而增强铜离子介导的铜死亡过程。同时, $\text{Cu}_x\text{S}$ 又具有优良的PTT特性,在1064 nm光照射下具有很强的PTT效果[图7(N)]。最终,这种微生物纳米杂化物在动物实验中取得了优异的抗肿瘤效果[图7(O)]。在此基础上,进一步联合抗细胞程序性死亡-配体1抗体( $\alpha\text{PD-L1}$ )疗法激活了更多的免疫细胞,取得了更加优异的治疗效果。

## 2.6 免疫检查点治疗联合铜死亡治疗

免疫检查点阻断治疗是通过免疫检查点抑制剂阻断肿瘤细胞对免疫细胞的免疫活性抑制,从而促进机体抗肿瘤免疫反应的一种治疗手段,已经在临床上取得了显著的进展<sup>[62]</sup>。程序性死亡受体1(PD-1)是T细胞的一个重要的抑制性检查点,通过与正常细胞上存在的程序性细胞死亡配体1(PD-L1)结合以维持机体的免疫活性平衡,而肿瘤细胞可以通过过表达PD-L1和上调T细胞上的PD-1来抑制TME中的免疫活性<sup>[63,64]</sup>。使用 $\alpha\text{PD-L1}$ 可以阻断PD-1与PD-L1结合,恢复肿瘤细胞中的免疫细胞活性。最近的研究发现,肿瘤细胞中铜离子含量与PD-L1的表达密切相关,高铜离子水平会增强PD-L1的表达,加剧肿瘤细胞的免疫逃逸<sup>[65]</sup>。这将削弱铜离子超载介导的铜死亡治疗效果,所以联合 $\alpha\text{PD-L1}$ 疗法可以降低由于铜离子升高所导致的免疫逃逸,以取得更优异的疗效。

目前已有多个基于铜死亡的 $\alpha\text{PD-L1}$ 协同疗法的工作被报道。例如,Guo等<sup>[66]</sup>将伊利司莫(Elesclomol,一种有效的铜离子载体)-Cu通过自组装封装在两亲性生物降解聚合物(PHPM)中,得到纳米颗粒NP@ESCu,用于铜死亡协同 $\alpha\text{PD-L1}$ 疗法的膀胱癌肿瘤治疗[图8(A)和(B)]。NP@ESCu进入肿瘤细胞后,PHPM的酮缩硫醇键在肿瘤细胞中高水平ROS作用下发生断裂,导致纳米颗粒发生解体[图8(C)],释放出的Elesclomol-Cu能够靶向线粒体,进而诱发肿瘤细胞铜死亡[图8(D)]。肿瘤细胞不断摄取NP@ESCu又会导致肿瘤细胞的PD-L1的表达显著升高[图8(E)],所以联合 $\alpha\text{PD-L1}$ 疗法可以进一步提高治疗效果。动物实验结果表明,NP@ESCu与 $\alpha\text{PD-L1}$ 联用在小鼠体内具有最强的抑瘤作用[图8(F)]。类似地,BCMD被用于铜死亡介导的免疫治疗并与 $\alpha\text{PD-L1}$ 疗法结合用于胶质母细胞瘤的治疗[图8(G)]。BCMD释放的铜离子诱导细胞铜死亡的发生[图8(H)],并且BCMD还能消耗GSH并生成 $\text{O}_2$ 气,以增强肿瘤细胞对铜死亡的敏感性。BCMD与 $\alpha\text{PD-L1}$ 的联用显著提升了树突状细胞(DC)的成熟[图8(I)],并在动物实验中取得了优异的抗肿瘤效果[图8(J)]。

通过对纳米材料进行设计修饰可以使材料既具有铜死亡诱导特性,又可充当 $\alpha\text{PD-L1}$ ,在不需要额外加入 $\alpha\text{PD-L1}$ 的条件下以实现简单的 $\alpha\text{PD-L1}$ 与铜死亡协同治疗。为此,Liu等<sup>[67]</sup>通过将过表达PD-1的T细胞细胞膜包裹在负载有四乙基秋蓝姆化二硫(DSF)与 $\text{Cu}^{2+}$ 螯合物(DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ )的二维材料Mxene上(一种由过渡金属如钛的碳化物和氮化物生成的二维材料),获得了一种Cu X-P系统。该系统可用于铜死亡、 $\alpha\text{PD-L1}$ 免疫检查点治疗和PTT的联合治疗[图8(K)]。Cu X-P系统可以像补丁一样识别并黏附在肿瘤细胞的PD-L1上[图8(L)],进入肿瘤细胞后释放出的DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 会诱发肿瘤细胞发生铜死亡[图8(M)],并提高肿瘤细胞膜上的PD-L1的表达量,肿瘤表面补充的PD-L1会增加CuX-P的黏附并进一步被内化。这种反馈环路调节将阻断并消耗PD-L1,同时增加肿瘤细胞对CuX-P的摄入,以实现高效的PD-L1阻断和铜死亡诱导。此外,CuX-P还能实现PTT以增强治疗效果,这种铜死亡协同 $\alpha\text{PD-L1}$



**Fig. 8** Nanomaterials based on Cuproptosis for  $\alpha$ PD-L1 combination therapy

(A) Design of NP@ESC to induce cuproptosis; (B) schematic illustration targeting cancer cells by inducing cuproptosis with NP@ESC combined with  $\alpha$ PD-L1 for enhanced cancer therapy; (C) representative TEM images of NP@ES and representative TEM images of NP@ESC in the presence of 10 mmol/L  $H_2O_2$ ; (D) the expression of LIAS by western blot; (E) representative FCM profiles of PD-L1 expression after various treatments<sup>[66]</sup>; (F) representative FCM profiles of PD-L1 expression after various treatments<sup>[66]</sup>; (G) schematic of the preparation and therapeutic mechanism of BCMD; (H) western blotting analysis on the expressions of Fe-S cluster protein in GL261 cells after different treatments; (I) quantitative analysis of mature DCs; (J) relative fluorescence intensity of glioblastoma-bearing mice with different treatments<sup>[13]</sup>; (K) schematic illustration showing the preparation of CuX-P and the proposed mechanism of CuX-P to treat TNBC. CuX-P, DSF/ $Cu^{2+}$ -loading MXene with CTLL2-PD1 membrane coating, DLAT, dihydrolipoamide S-acetyltransferase, DSF, disulfiram, TNBC, triple-negative breast cancer; (L) CuX-P outperformed than spherical nanoparticles in blocking PD-L1 and inducing cuproptosis in tumor cells; (M) WB analysis of DLAT, HMGB1 and CRT in 4T1 cells; (N) flow-cytometric analysis of  $CD3^+ CD8^+$  cells in tumors at 7 d post laser irradiation.  $n=5$ ; (O) tumor growth curve of mice after different treatments<sup>[67]</sup>.

(A—F) Copyright 2023, Wiley-VCH; (G—J) Copyright 2023, Elsevier; (K—O) Copyright 2023, Elsevier.

和PTT的联合治疗模式可强烈促进免疫细胞的成熟[图8(N)], 激活机体的免疫反应, 并在动物实验中取得了良好的抗肿瘤效果[图8(O)].

## 2.7 气体治疗联合铜死亡治疗

众所周知, 生物体内存在NO, CO,  $H_2S$ 和 $H_2$ 等气体分子, 它们充当信号分子来调节机体的正常生

理活动<sup>[68,69]</sup>. 气体疗法通过气体信号分子(GSMs)调节肿瘤细胞代谢等过程达到肿瘤治疗的目的, 具有无耐药性、低毒性及治疗时间短等优点<sup>[70-72]</sup>. 其中氢气作为一种独特的GSMs, 具有快速渗透、可以被电极实时监测和副产物无毒等独特性质, 是目前最具应用前途的治疗气体<sup>[73]</sup>. 由于驱动光催化反应的光穿透深度有限以及在催化剂表面过量沉积的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>阻碍了水的光解作用, 在光催化驱动H<sub>2</sub>治疗模式中, 产生H<sub>2</sub>的效率非常低<sup>[74-76]</sup>. 而铜离子可以作为类芬顿催化剂消除TME中过量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>并产生ROS, 增强光催化产H<sub>2</sub>效率, 同时诱导肿瘤细胞发生铜死亡, 增强氢气疗法的抗肿瘤效果. 例如, Ding等<sup>[77]</sup>将Cu<sup>2+</sup>离子锚定在由碳点(CDs)掺杂的氮化碳(CN)材料上, 制备出用于铜死亡协同氢气治疗Cu@CDCN[图9(A)]. Cu@CDCN进入肿瘤细胞后, 在光照条件下光催化分解水产生H<sub>2</sub>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>[图9(B)和(C)], 以实现对肿瘤的H<sub>2</sub>气治疗. 在光催化过程中, 引入的Cu<sup>2+</sup>离子可以形成具有氧化还原活性的Cu<sup>+</sup>-碳物种. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>通常会覆盖生成位点并毒害光催化剂, 而锚定的Cu<sup>2+</sup>会分解H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>并消耗GSH. GSH的消耗使得肿瘤细胞内氧化还原平衡被打破, 进一步诱导肿瘤细胞中ROS水平上升, 同时又能增强铜离子介导的铜死亡过程[图9(D)]. 动物实验结果表明, 单一治疗方法表现出较低的疗效, 而铜死亡协同氢气疗法表现出明显的肿瘤抑制效果[图9(E)].

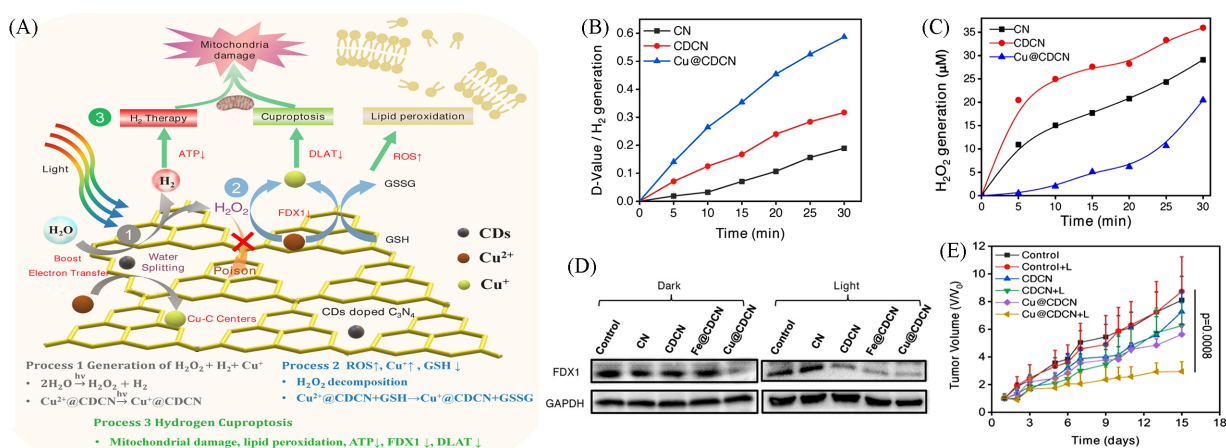


Fig. 9 Nanomaterials based on Cuproptosis for hydrogen combination therapy<sup>[77]</sup>

(A) Schematic illustration of a Cu(II)-anchored CD-doped C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nanosheet (Cu@CDCN) for the synergistic photocatalytic hydrogen-boosted cuproptosis therapy of cancer; (B) statistical chart of the difference between the 663-nm peaks of different solutions after irradiation; (C) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation by CN, CDCN, and Cu@CDCN under LED irradiation; (D) FDX1 protein content of 4T1 cells after different treatments; (E) average tumor growth curves of 4T1-tumor-bearing mice after different 15 d treatments.

Copyright 2023, Wiley-VCH.

## 2.8 PTT联合铜死亡治疗

PTT是利用光热试剂将近红外光辐照激光能量转化为热能从而杀死肿瘤细胞的一种治疗方法, 具有无创、可精准调控等优点. 然而, 在PTT利用热杀伤肿瘤细胞的过程中, 温度的升高会激活肿瘤细胞合成热休克蛋白(Heat shock proteins, HSPs), 这将导致肿瘤细胞对热诱导的细胞凋亡产生抵抗, 从而削弱PTT的效果<sup>[78,79]</sup>. 在PTT中引入ROS的策略可以导致HSPs失活或变性, 提升PTT效果<sup>[80]</sup>. 铜离子可将TME中过量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转化为ROS, 同时诱导肿瘤细胞铜死亡, 引起线粒体功能障碍, 进一步提高TME中ROS水平, 增强PTT效果. 所以, 将铜死亡治疗与PTT联合治疗是一种很有前途的治疗方法. Chan等<sup>[81]</sup>基于类金属Se对Cu的强稳定作用开发了Cu<sub>2-x</sub>Se, 然后在Cu<sub>2-x</sub>Se基础上结合带有强正电荷的聚乙烯亚胺(PEI), 并用二甲基马来酸酐(DMMA)包裹, 构建了一种用于铜死亡协同PTT治疗的纳米颗粒DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se[图10(A)和(B)]. 之后, 他们再使用精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)多肽进行纳米颗粒的表面修饰, 显著提升了纳米颗粒对肿瘤的靶向能力. 在肿瘤酸性环境下, DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se中的DMMA发生解离, 使得PEI暴露出来, 从而使Cu<sub>2-x</sub>Se的表面电荷翻转为强正电荷[图10(C)], 以促进细胞对纳米颗粒的摄取. 进入肿瘤细胞中的Cu<sub>2-x</sub>Se在肿瘤细胞中过表达H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的激活下释放出Cu<sup>2+</sup>. 精确

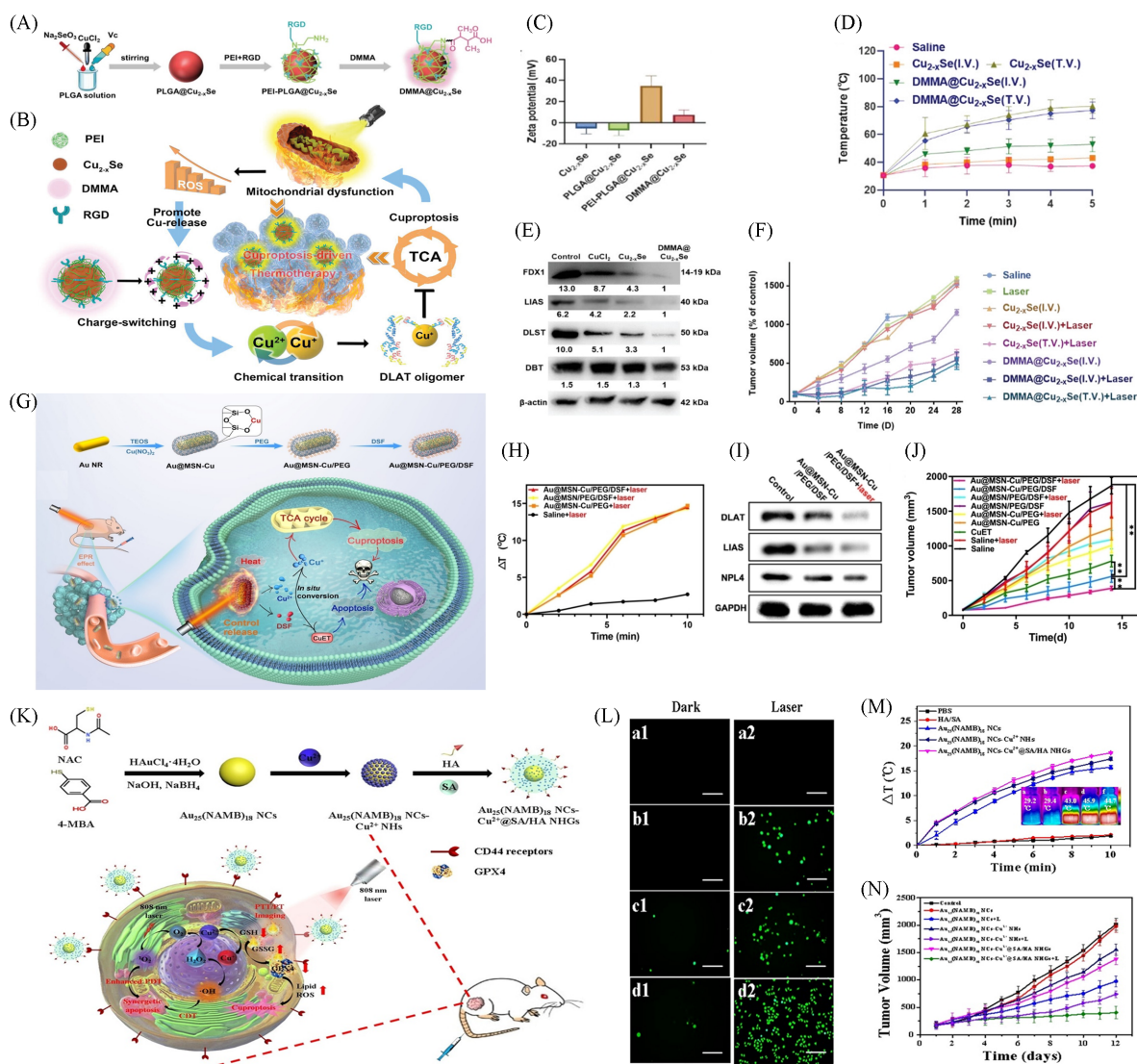


Fig. 10 Nanomaterials based on Cuproptosis for PTT combination therapy

(A) The design and preparation of DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se; (B) schematic illustration of DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se for cuproptosis-driven enhancement of thermotherapy; (C) Zeta potential of DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se; (D) temperature curves of A375 tumor-bearing nude mice after treatment with Cu<sub>2-x</sub>Se and DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se (4 mg/kg) under 808 nm laser (2 W/cm<sup>2</sup>, 5 min) irradiation, tumor after intravenous injection (I. V.) or tumor injection (T. V.); (E) DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se down-regulated the proteins related to TAC; (F) tumor volume of A375 tumor-bearing nude mice in 28 d of cotreatment<sup>[81]</sup>; (G) fabrication process of Au@MSN-Cu/PEG/DSF and its specific functionality for tumor therapy; (H) temperature change at the tumor site; (I) western blot analysis of DLAT, LIAS, NPL4, and GAPDH expression levels in 4T1 cells after different treatments; (J) change curves for the tumor volume<sup>[82]</sup>; (K) schematic diagram for the preparation and simulated antitumor processes of Au<sub>25</sub>(NAMB)<sub>18</sub> NCs-Cu@SA/HA NHGs; (L) fluorescence microscopy images of HepG2 cells incubated with PBS (a1, a2, control groups), Au<sub>25</sub>(NAMB)<sub>18</sub> NCs (b1, b2), Au<sub>25</sub>(NAMB)<sub>18</sub> NCsCu<sup>2+</sup> NHs (c1, c2), and Au<sub>25</sub>(NAMB)<sub>18</sub> NCs-Cu<sup>2+</sup>@SA/HA NHGs (d1, d2), without (1) and with (2) laser irradiation (808 nm, 1 W/cm<sup>2</sup>), respectively, scale bar: 200 μm; (M) temperature change curves and thermal images of dispersions with different samples irradiated by 808 nm laser at 1 W/cm<sup>2</sup> for 10 min; (N) relative tumor volume curves<sup>[36]</sup>.

(A—F) Copyright 2023, Wiley-VCH; (G—J) Copyright 2023, Wiley-VCH; (K—N) Copyright 2023, Elsevier.

且高效率的纳米药物摄取使得 DMMA@Cu<sub>2-x</sub>Se 对黑色素瘤细胞具有优异的铜死亡和 PTT 联合治疗效果 [图 10(D)和(E)]. 此外, PTT 还会导致线粒体功能障碍而上调 ROS 水平, 这将进一步促进纳米材料释放 Cu<sup>2+</sup>以加强铜死亡. 这种铜死亡协同 PTT 的治疗方法取得了优异的抗肿瘤治疗效果 [图 10(F)]. 类似地, Zhou 等<sup>[82]</sup>制备了介孔二氧化硅包覆的金纳米棒 (Au@MSN), 并采用铜掺杂、聚乙二醇 (PEG) 修饰、双硫仑 (DSF) 负载的方法开发出一种多功能治疗纳米平台 (Au@MSN-Cu/PEG/DSF), 用于基于铜

死亡的 PTT 联合治疗[图 10(G)]. Au@MSN-Cu/PEG/DSF 进入肿瘤细胞后,在近红外光照射下,Au@MSN 会产生热量以实现 PTT[图 10(H)],同时促进 Cu<sup>2+</sup>和 DSF 的释放,进一步 Cu<sup>2+</sup>和 DSF 反应生成毒性更强的 CuET,引起肿瘤细胞发生铜死亡[图 10(I)]. 体内抑瘤曲线表明,Au@MSN-Cu/PEG/DSF 纳米治疗平台具有优异的抗肿瘤治疗能力[图 10(J)]. Yang 等<sup>[36]</sup>也设计了一种以 *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸(NAC)和 4-巯基苯甲酸(4MBA)为配体的水溶性金纳米簇[Au<sub>25</sub>(NAMB)<sub>18</sub> NCs],再通过表面吸附 Cu<sup>2+</sup>离子引发 SA-HA 复合材料的交联,形成对 TME 具有多重响应能力的核-壳结构纳米杂化凝胶(NHG),用于基于铜死亡的 CDT/PDT/PTT 多模式联合治疗[图 10(K)]. NHGs 进入肿瘤细胞会催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解为 ·OH 实现 CDT 治疗,同时,在近红外光照射下激活 PDT 产生 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>,增强肿瘤细胞中 ROS 水平[图 10(L)]. 此外,光照也会激活 PTT,使得肿瘤细胞温度升高,协同杀伤肿瘤细胞[图 10(M)],以增强铜死亡治疗效果[图 10(N)].

### 3 总结与展望

铜死亡是一种全新的 PCD,它由细胞内过量铜离子积累而诱发,以脂酰化线粒体酶的聚集和 Fe-S 蛋白质丢失为特征. 细胞凋亡曾被认为是肿瘤细胞 PCD 的主要形式,所以人们试图通过选择性诱发肿瘤细胞凋亡途径去治疗癌症. 然而,肿瘤细胞具有抵抗细胞凋亡的能力,这导致基于调控肿瘤细胞凋亡的药物在抗肿瘤治疗中效果不佳<sup>[83-85]</sup>. 铜死亡提供了一个通过诱发肿瘤细胞 PCD 的全新癌症治疗方法,以规避肿瘤细胞凋亡抵抗和炎症坏死的风险. 随着纳米技术的蓬勃发展,通过纳米材料选择性诱发肿瘤细胞 PCD 成为可能. 基于纳米材料诱发肿瘤细胞发生凋亡、焦亡及铁死亡用于癌症治疗的研究取得了巨大的成果. 目前,通过纳米材料诱发肿瘤细胞铜死亡用于肿瘤治疗的研究正处于起步阶段,并且具有巨大的潜力. 此外,基于纳米材料诱导肿瘤细胞铜死亡并与其它疗法进行联合具有更好的抗肿瘤效果,可以弥补单一铜死亡治疗的局限.

尽管基于纳米材料诱导的铜死亡取得了一定的进展,但目前仍面临一系列挑战. 首先,从机制上来看,目前诱导铜死亡主要还是依赖于铜基纳米材料对肿瘤细胞内铜离子含量的调控,其它诱导细胞铜死亡的方式仍有待被发现. 此外,铜死亡与铁死亡密切相关,其在相关分子机制上存在串扰. 对于其它类型 PCD 的关联目前尚不清晰,有待于铜死亡的相关机制进一步被揭示. 其次,从纳米材料设计的角度来看,重点在于纳米材料如何精准调控肿瘤细胞铜死亡而不伤害正常的细胞,设计的纳米材料应具有良好的肿瘤细胞靶向性和 TME 响应性. 这取决于递送铜离子的纳米材料或铜离子载体具有靶向肿瘤细胞和 TME 响应精准释放铜离子的特性. 目前,使用离子载体(一类能够与金属离子在生理条件下可逆结合的化合物,可以促进金属离子跨膜运输,当受到特定刺激,离子载体能够释放金属离子<sup>[85]</sup>,如 ES, DSF 和 CQ)递送铜离子是较常见的递送策略. 此外,MOF 和无机纳米颗粒也是有效的铜离子递送纳米材料. 通过表面修饰 MOF 或无机纳米颗粒赋予其主动靶向肿瘤细胞的能力,进入肿瘤细胞内,在内源肿瘤微环境的刺激下,或者通过外源声、光、热等手段调控纳米材料的解体,从而释放铜离子. 值得注意的是,铜离子介导的铜死亡发生在线粒体中,其中 Cu<sup>+</sup>离子是直接参与铜死亡的金属离子. 因此,设计具有线粒体靶向以及能够搭载并释放 Cu<sup>+</sup>离子的纳米材料或许能够更有效地诱导肿瘤细胞铜死亡. 同时,纳米材料还可通过调控 TME 和肿瘤代谢过程增强肿瘤细胞铜死亡效果,以实现最佳的抗肿瘤治疗效果. 最后,从联合治疗的角度来看,纳米材料通过铜死亡与其它疗法的联合取得了更好的治疗效果,可以弥补单一治疗方法的局限,但需要设计简单且高效的联合治疗模式. 总之,纳米材料介导的铜死亡研究还处于起步阶段,相信这种全新的细胞死亡方式将为未来肿瘤治疗提供更多的可能.

### 参 考 文 献

- [1] Tsvetkov P., Coy S., Petrova B., Dreishpoon M., Verma A., Abdusamad M., Rossen J., Joesch-Cohen L., Humeidi R., Spangler R. D., Eaton J. K., Frenkel E., Kocak M., Corsello S. M., Lutsenko S., Kanarek N., Santagata S., Golub T. R., *Science*, 2022, 375(6586), 1254—1261

- [ 2 ] Wu D., Wang S., Yu G., Chen X., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60(15), 8018—8034
- [ 3 ] Halliwell B., Gutteridge J. M. C., *Biochem. J.*, **1984**, 219(1), 1—14
- [ 4 ] Chen L., Min J., Wang F., *Sig. Transduct. Target Ther.*, **2022**, 7(1), 1—16
- [ 5 ] Albalawi F., Hussein M. Z., Fakurazi S., Masarudin M. J., *Int. J. Nanomedicine*, **2021**, 16, 161—184
- [ 6 ] Wen J., Yang K., Liu F., Li H., Xu Y., Sun S., *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, 46(19), 6024—6045
- [ 7 ] Irvine D. J., Dane E. L., *Nat. Rev. Immunol.*, **2020**, 20(5), 321—334
- [ 8 ] Cobine P. A., Moore S. A., Leary S. C., *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.*, **2021**, 1868(1), 118867
- [ 9 ] Garza N. M., Swaminathan A. B., Maremanda K. P., Zulkifli M., Gohil V. M., *Trends Endocrinol. Metab.*, **2023**, 34(1), 21—33
- [ 10 ] Liu C., Zhang Y., Sun W., Zhu H., Su M., Wang X., Rong X., Wang K., Yu M., Sheng W., Zhu B., *Talanta*, **2023**, 260, 124567
- [ 11 ] Banci L., Bertini I., Ciofi-Baffoni S., Kozyreva T., Zovo K., Palumaa P., *Nature*, **2010**, 465(7298), 645—648
- [ 12 ] Pi W., Wu L., Lu J., Lin X., Huang X., Wang Z., Yuan Z., Qiu H., Zhang J., Lei H., Wang P., *Bioact. Mater.*, **2023**, 29, 98—115
- [ 13 ] Huang Q. X., Liang J. L., Chen Q. W., Jin X. K., Niu M. T., Dong C. Y., Zhang X. Z., *Nano Today*, **2023**, 51, 101911
- [ 14 ] Bailey H. H., Mulcahy R. T., Tutsch K. D., Arzooanian R. Z., Alberti D., Tombes M. B., Wilding G., Pomplun M., Spriggs D. R., *J. Clin. Oncol.*, **1994**, 12(1), 194—205
- [ 15 ] Sainero-Alcolado L., Liaño-Pons J., Ruiz-Pérez M. V., Arsenian-Henriksson M., *Cell Death Differ.*, **2022**, 29(7), 1304—1317
- [ 16 ] Han Y., Ouyang J., Li Y., Wang F., Jiang J. H., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, 12(1), 288—297
- [ 17 ] Li W. P., Su C. H., Chang Y. C., Lin Y. J., Yeh C. S., *ACS Nano*, **2016**, 10(2), 2017—2027
- [ 18 ] Sang Y., Cao F., Li W., Zhang L., You Y., Deng Q., Dong K., Ren J., Qu X., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142(11), 5177—5183
- [ 19 ] McKie A. T., Barrow D., Latunde-Dada G. O., Rolfs A., Sager G., Mudaly E., Mudaly M., Richardson C., Barlow D., Bomford A., Peters T. J., Raja K. B., Shirali S., Hediger M. A., Farzaneh F., Simpson R. J., *Science*, **2001**, 291(5509), 1755—1759
- [ 20 ] Ohgami R. S., Campagna D. R., McDonald A., Fleming M. D., *Blood*, **2006**, 108(4), 1388—1394
- [ 21 ] Puig S., Thiele D. J., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2002**, 6(2), 171—180
- [ 22 ] Zhao F., Liang L., Wang H., Wang C., Su D., Ying Y., Li W., Li J., Zheng J., Qiao L., Mou X., Che S., Yu J., *Adv. Funct. Materials*, **2023**, 33(38), 2300941
- [ 23 ] Ning S., Lyu M., Zhu D., Lam J. W. Y., Huang Q., Zhang T., Tang B. Z., *ACS Nano*, **2023**, 17(11), 10206—10217
- [ 24 ] Liu Y., Zhao Z. H., Wang T., Yao J. Y., Wei W. Q., Su L. H., Tan S. S., Liu Z. X., Song H., Chen J. Y., Zheng W., Luo W. J., Zheng G., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2023**, 256, 114861
- [ 25 ] Matsui M. S., Petris M. J., Niki Y., Karaman-Jurukovska N., Muizzuddin N., Ichihashi M., Yarosh D. B., *J. Invest. Dermatol.*, **2015**, 135(3), 834—841
- [ 26 ] Porporato P. E., Filigheddu N., Pedro J. M. B. S., Kroemer G., Galluzzi L., *Cell Res.*, **2018**, 28(3), 265—280
- [ 27 ] Xu Y., Liu S., Zeng L., Ma H., Zhang Y., Yang H., Liu Y., Fang S., Zhao J., Xu Y., Ashby C. R., He Y., Dai Z., Pan Y., *Adv. Mater.*, **2022**, 34(43), 2204733
- [ 28 ] Zhang Z., Zhou Y., Zhao S., Ding L., Chen B., Chen Y., *Adv. Sci.*, **2022**, 9(35), 2203583
- [ 29 ] Wang Y., Liu T., Li X., Sheng H., Ma X., Hao L., *Front. Pharmacol.*, **2021**, 12, 735965
- [ 30 ] Lucky S. S., Soo K. C., Zhang Y., *Chem. Rev.*, **2015**, 115(4), 1990—2042
- [ 31 ] Rundle P., *Biomedicines*, **2017**, 5(4), 69
- [ 32 ] Zheng J., Ge H., Guo M., Zhang T., Hu Q., Yao Q., Long S., Sun W., Fan J., Du J., Peng X., *Small*, **2023**, 20, 2304407
- [ 33 ] Liang S., Deng X., Ma P., Cheng Z., Lin J., *Adv. Mater.*, **2020**, 32(47), 2003214
- [ 34 ] Qian X., Zheng Y., Chen Y., *Adv. Mater.*, **2016**, 28(37), 8097—8129
- [ 35 ] Tang Z., Liu Y., He M., Bu W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58(4), 946—956
- [ 36 ] Yang Z., Zhao Z., Cheng H., Shen Y., Xie A., Zhu M., *J. Colloid Interface Sci.*, **2023**, 641, 215—228
- [ 37 ] Zhou Y., Fan S., Feng L., Huang X., Chen X., *Adv. Mater.*, **2021**, 33(48), 2104223
- [ 38 ] Li Y., Xiao Y., Lin H. P., Reichel D., Bae Y., Lee E. Y., Jiang Y., Huang X., Yang C., Wang Z., *Biomaterials*, **2019**, 188, 160—172
- [ 39 ] Yu Q., Zhou J., Liu Y., Li X. Q., Li S., Zhou H., Kang B., Chen H., Xu J., *Adv. Healthc. Mater.*, **2023**, 12, 2301429
- [ 40 ] Zhao F., Yu H., Liang L., Wang C., Shi D., Zhang X., Ying Y., Cai W., Li W., Li J., Zheng J., Qiao L., Che S., Yu J., *Adv. Healthc. Mater.*, **2023**, 12(29), 2301346
- [ 41 ] Li Y., Xiao Y., Lin H. P., Reichel D., Bae Y., Lee E. Y., Jiang Y., Huang X., Yang C., Wang Z., *Biomaterials*, **2019**, 188, 160—172
- [ 42 ] Liang S., Deng X., Ma P., Cheng Z., Lin J., *Adv. Mater.*, **2020**, 32(47), 2003214
- [ 43 ] Qian X., Zheng Y., Chen Y., *Adv. Mater.*, **2016**, 28(37), 8097—8129
- [ 44 ] Carneiro B. A., El-Deiry W. S., *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **2020**, 17(7), 395—417
- [ 45 ] Fu J., Li T., Zhu Y., Hao Y., *Adv. Funct. Mater.*, **2019**, 29(51), 1906195
- [ 46 ] Chen K., Zhou A., Zhou X., Liu Y., Xu Y., Ning X., *Nano Lett.*, **2023**, 23(7), 3038—3047
- [ 47 ] Gao W., Wang X., Zhou Y., Wang X., Yu Y., *Sig Transduct. Target Ther.*, **2022**, 7(1), 196
- [ 48 ] Ryder C. B., Kondolf H. C., O'Keefe M. E., Zhou B., Abbott D. W., *J. Mol. Biol.*, **2022**, 434(4), 167183

- [49] Wei X., Xie F., Zhou X., Wu Y., Yan H., Liu T., Huang J., Wang F., Zhou F., Zhang L., *Cell Mol. Immunol.*, **2022**, *19*(9), 971—992
- [50] Tan Y., Chen Q., Li X., Zeng Z., Xiong W., Li G., Li X., Yang J., Xiang B., Yi M., *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **2021**, *40*(1), 153
- [51] Yu P., Zhang X., Liu N., Tang L., Peng C., Chen X., *Sig. Transduct. Target Ther.*, **2021**, *6*(1), 128
- [52] Miao R., Jiang C., Chang W. Y., Zhang H., An J., Ho F., Chen P., Zhang H., Junqueira C., Amgalan D., Liang F. G., Zhang J., Evavold C. L., Hafner-Bratkovič I., Zhang Z., Fontana P., Xia S., Waldeck-Weiermair M., Pan Y., Michel T., Bar-Peled L., Wu H., Kagan J. C., Kitsis R. N., Zhang P., Liu X., Lieberman J., *Immunity*, **2023**, *56*(11), 2523—2541.e8
- [53] Qiao L., Zhu G., Jiang T., Qian Y., Sun Q., Zhao G., Gao H., Li C., *Adv. Mater.*, **2023**, *36*, 2308241
- [54] Ma T., Chen J., Zhu P., Zhang C., Zhou Y., Duan J., *Life Sci.*, **2022**, *307*, 120868
- [55] Dixon S. J., Lemberg K. M., Lamprecht M. R., Skouta R., Zaitsev E. M., Gleason C. E., Patel D. N., Bauer A. J., Cantley A. M., Yang W. S., Morrison B., Stockwell B. R., *Cell*, **2012**, *149*(5), 1060—1072
- [56] Tang D., Kang R., Berghe T. V., Vandenabeele P., Kroemer G., *Cell Res.*, **2019**, *29*(5), 347—364
- [57] Xue Q., Yan D., Chen X., Li X., Kang R., Klionsky D. J., Kroemer G., Chen X., Tang D., Liu J., *Autophagy*, **2023**, *19*(7), 1982—1996
- [58] Wang W., Lu K., Jiang X., Wei Q., Zhu L., Wang X., Jin H., Feng L., *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **2023**, *42*(1), 142
- [59] Chen W., Xie W., Gao Z., Lin C., Tan M., Zhang Y., Hou Z., *Adv. Sci.*, **2023**, *10*, 2303694
- [60] Xu W., Qian J., Hou G., Wang T., Wang J., Wang Y., Yang L., Cui X., Suo A., *Adv. Funct. Mater.*, **2022**, *32*(40), 2205013
- [61] Ruan Y., Zhuang H., Zeng X., Lin L., Wang X., Xue P., Xu S., Chen Q., Yan S., Huang W., *Adv. Healthc. Mater.*, **2023**, *13*, 2302537
- [62] Li X., Zhen Y., Li S., *Mater. Des.*, **2021**, *209*, 109958
- [63] Keir M. E., Butte M. J., Freeman G. J., Sharpe A. H., *Annu. Rev. Immunol.*, **2008**, *26*(1), 677—704
- [64] Xu-Monette Z. Y., Zhou J., Young K. H., *Blood*, **2018**, *131*(1), 68—83
- [65] Voli F., Valli E., Lerra L., Kimpton K., Saletta F., Giorgi F. M., Mercatelli D., Rouaen J. R. C., Shen S., Murray J. E., Ahmed-Cox A., Cirillo G., Mayoh C., Beavis P. A., Haber M., Trapani J. A., Kavallaris M., Vittorio O., *Cancer Res.*, **2020**, *80*(19), 4129—4144
- [66] Guo B., Yang F., Zhang L., Zhao Q., Wang W., Yin L., Chen D., Wang M., Han S., Xiao H., Xing N., *Adv. Mater.*, **2023**, *35*(22), 2212267
- [67] Liu T., Zhou Z., Zhang M., Lang P., Li J., Liu Z., Zhang Z., Li L., Zhang L., *J. Control. Release*, **2023**, *362*, 502—512
- [68] Szabo C., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2016**, *15*(3), 185—203
- [69] Jin Q., Deng Y., Jia F., Tang Z., Ji J., *Adv. Ther.*, **2018**, *1*(6), 1800084
- [70] Li S., Liao R., Sheng X., Luo X., Zhang X., Wen X., Zhou J., Peng K., *Front. Oncol.*, **2019**, *9*, 696
- [71] Ji P., Yang K., Xu Q., Qin G., Zhu Q., Qian Y., Yao W., *Pharmaceuticals*, **2023**, *16*(10), 1394
- [72] Opoku-Damoah Y., Zhang R., Ta H. T., Xu Z. P., *Exploration*, **2022**, *2*, 20210181
- [73] Wu Y., Yuan M., Song J., Chen X., Yang H., *ACS Nano*, **2019**, *13*(8), 8505—8511
- [74] Liu J., Liu Y., Liu N., Han Y., Zhang X., Huang H., Lifshitz Y., Lee S. T., Zhong J., Kang Z., *Science*, **2015**, *347*(6225), 970—974
- [75] Wu Y., Su L., Yuan M., Chen T., Ye J., Jiang Y., Song J., Yang H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, *60*(23), 12868—12875
- [76] Liu J., Zhang Y., Lu L., Wu G., Chen W., *Chem. Commun.*, **2012**, *48*(70), 8826—8828
- [77] Ding H., Ren F., Liu P., Feng Y., Ma X., Shen Z., Shi Q., Xu M., Li W., Chen H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, *62*(44), e202311549
- [78] Tang Z., Zhao P., Ni D., Liu Y., Zhang M., Wang H., Zhang H., Gao H., Yao Z., Bu W., *Mater. Horizons.*, **2018**, *5*(5), 946—952
- [79] Shevtsov M., Balogi Z., Khachatryan W., Gao H., Vígh L., Multhoff G., *Cells*, **2020**, *9*(5), 1263
- [80] Zang P., Du Y., Yu C., Yang D., Gai S., Feng L., Liu S., Yang P., Lin J., *Chem. Mater.*, **2023**, *35*(18), 7770—7780
- [81] Chan L., Liu Y., Chen M., Su Y., Guo J., Zhu L., Zhan M., Chen T., Lu L., *Adv. Funct. Mater.*, **2023**, *33*(33), 2302054
- [82] Zhou J., Yu Q., Song J., Li S., Li X., Kang B., Chen H., Xu J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, *62*(12), e202213922
- [83] Gao W., Wang X., Zhou Y., Wang X., Yu Y., *Sig. Transduct. Target Ther.*, **2022**, *7*(1), 1—26
- [84] Hanahan D., *Cancer Discov.*, **2022**, *12*(1), 31—46
- [85] Steinbrueck A., Sedgwick A. C., Brewster J. T., Yan K. C., Shang Y., Knoll D. M., Vargas-Zúñiga G. I., He X. P., Tian H., Sessler J. L., *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, *49*(12), 3726—3747

(Ed.: W, K, M)