

诱导程序性细胞死亡的金属抗肿瘤药物研究

曾家豪, 巢晖*

中山大学化学学院, 生物无机与合成化学教育部重点实验室, 广州 510006

摘要: 在生命体系中, 细胞死亡是一个重要的过程, 它涉及多种形式, 这些死亡形式拥有不同的诱因、机制和特征。通过研究细胞各种死亡方式的分子机制, 能够更好地干预并调控细胞死亡, 这对癌症的治疗是极其重要的。自从顺铂被发现能够抑制癌细胞的增殖后, 人们便开始重视并研究各类金属药物在抗肿瘤治疗中的作用。金属抗肿瘤药物诱导细胞死亡的方式是多样且复杂的, 深入研究这些死亡方式有助于设计金属药物以诱导细胞发生特定形式的死亡, 实现预期的治疗模式, 达到理想的治疗效果。本文介绍了诱导细胞凋亡、坏死性凋亡、焦亡、铁死亡、铜死亡、胀亡和免疫原性死亡的金属药物及其近期研究进展。

关键词: 金属药物; 程序性细胞死亡; 抗肿瘤

中图分类号: G64; O6

Research on Programmed Cell Death Induced by Metal Antitumor Drugs

Jiahao Zeng, Hui Chao *

MOE Key Laboratory of Bioinorganic and Synthetic Chemistry, School of Chemistry, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China.

Abstract: In biological systems, cell death represents a crucial biological process encompassing diverse modalities characterized by distinct triggers, molecular mechanisms, and phenotypic features. Elucidating the molecular pathways governing various cell death modalities enables targeted intervention and precise regulation of cellular demise, which holds paramount significance in cancer therapeutics. The discovery of cisplatin's antiproliferative effects on cancer cells has catalyzed extensive investigation into metallic compounds for antitumor applications. The mechanisms through which metal-based antitumor agents induce cell death exhibit remarkable diversity and complexity. Systematic exploration of these death pathways facilitates the rational design of metallodrugs capable of triggering specific cell death modalities, thereby enabling tailored therapeutic strategies and optimized treatment outcomes. This review comprehensively summarizes recent advances in metal-based agents that induce apoptosis, necroptosis, pyroptosis, ferroptosis, cuproptosis, oncosis, and immunogenic cell death.

Key Words: Metal drugs; Programmed cell death; Antitumor

1 引言

人类使用金属药物治疗疾病的历史源远流长。早在公元前, 古代的中国人和埃及人就开始使用金属化合物治疗皮肤病等疾病^[1]。1969年, Barnett Rosenberg教授首次发现了顺铂具有抑制癌细胞增

收稿: 2024-06-11; 录用: 2024-09-02; 网络发表: 2025-04-08

*通讯作者, Email: ceschh@mail.sysu.edu.cn

基金资助: 国家自然科学基金(22120102002, 92353301)

殖的作用, 这为现代金属抗癌药物的研究奠定了基础^[2]。自从这一里程碑后, 便拉开了铂类药物治疗恶性肿瘤的序幕。随着研究的不断深入, 研究者们还发现了基于其他金属元素的抗癌药物, 如Fe、Cu、Re、Ru和Ir等^[3]。金属化合物能够利用其特有性质(如氧化还原、电子转移和光物理性质等)作用于生命体系, 从而诱导癌细胞的死亡, 实现较好的癌症治疗效果。

细胞具有多种死亡方式, 科学家们将细胞死亡方式分为意外细胞死亡(accidental cell death, ACD)和程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)两大类。ACD是一种生物学上不受控制的过程, 这是由于意外伤害刺激超过了细胞的可调节能力, 从而导致细胞死亡。相反, PCD是一种程序性的细胞过程, 受精确的信号转导途径控制。PCD与多种人类病理有关, 并有可能为癌症治疗提供额外的靶点^[4,5]。

PCD模式都依赖特定的分子机制, 意味着它们可以通过药物或基因干预进行调节^[6]。迄今为止, 已基于各种金属元素开发出大量抗肿瘤药物, 金属药物兼具结构可调性和种类多样性, 并且能够靶向并激活PCD, 这已成为一种充满希望的癌症治疗途径, 在许多类型的癌症治疗研究中迅速发展。由金属药物诱导的PCD主要包括凋亡、坏死性凋亡、焦亡、铁死亡、铜死亡、胀亡和免疫原性死亡多种模式^[7]。

在本文中, 我们将简要介绍各类PCD模式及其特点, 并综述近年来金属药物诱导程序性细胞死亡抗肿瘤的相关研究进展。

2 金属抗肿瘤药物诱导的程序性细胞死亡

2.1 凋亡

凋亡(Apoptosis)是癌细胞最主要的死亡方式, 这一术语最初是由John Kerr教授提出的, 用以描述一种具有特定形态变化的PCD模式^[8]。

在形态上, 凋亡的细胞会发生收缩和染色质凝集, 随后细胞膜起泡、细胞核塌陷, 最终产生凋亡小体并发生裂解。过去数十年间, 调控细胞凋亡的分子机制在多种生物体中得到了广泛的研究, 通常将介导细胞凋亡的途径分为内源性和外源性。内源性凋亡通常由DNA损伤、内质网应激和活性氧物种(reactive oxygen species, ROS)过载等扰动引发, 而外源性凋亡则由死亡受体或依赖性受体检测到细胞外微环境的扰动而引发^[6]。B细胞淋巴瘤2 (Bcl-2)家族成员和肿瘤坏死因子- α 超家族(TNFSF)成员分别是内源性凋亡和外源性凋亡过程中的重要生物分子, 而caspases家族对于两种途径都是不可或缺的。

目前已投入临床使用的化疗药物顺铂(Pt1)和卡铂(Pt2) (图1)正是通过损伤DNA从而激活内源性凋亡的信号转导途径^[9], 实现对癌症的抑制效果。

不幸的是, 随着这两种铂类化疗药物在临床上应用, 人们逐渐发现许多癌症类型对这类药物表现出了获得性的耐药, 并且顺铂和卡铂诱导的细胞凋亡通常是免疫沉默的, 导致了其较难治疗复发性和转移性癌症, 如乳腺癌、肺癌和胰腺癌等。目前, 科学家们已着手研究这两大问题, 开发了不相关金属药物和治疗策略。

基于耐药问题而开发的金属药物数量较多, 德国波鸿鲁尔大学Nils Metzler-Nolte教授课题组发现了一种含有菲啶的Re^I(CO)₃配合物(Re1, 图1)^[10], 可以同时诱导内源性和外源性凋亡。膜联蛋白V (annexin V)和碘化丙啶(propidium iodide, PI)双重染色实验结果表明, Re1能诱导p-糖蛋白过表达的耐药性Burkitt淋巴瘤系(BJAB)和白血病(Nalm-6)细胞系发生细胞凋亡。重要的是, 细胞毒性结果和线粒体膜电位的减少证实了内源性和外源性凋亡的激活。此外, 抗凋亡因子Bcl-2的表达并未对Re1诱导细胞凋亡的能力造成影响, 表明Re1具备克服耐药性的潜力。

针对复发性和转移性癌症, 已有靶向治疗肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)等诸多策略。其中, CSCs被认为在癌症转移复发过程中起主要作用^[11]。英国莱斯特大学Kogularamanan Suntharalingam教授团队开发了一例多核钯(II)配合物(Pd1, 图1), 能够进入CSCs细胞核并损伤基因组DNA从而诱导

CSCs发生细胞凋亡^[12]。Western Blotting实验结果表明，用**Pd1** ($5\text{-}20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理的HMLER-shEcad细胞在一定浓度下显示磷酸化H2AX和CHK2蛋白的表达显著增加，表明DNA发生了严重损伤。**Pd1**通过有效诱导CSCs发生凋亡的手段实现了对胰腺癌转移复发的治疗。

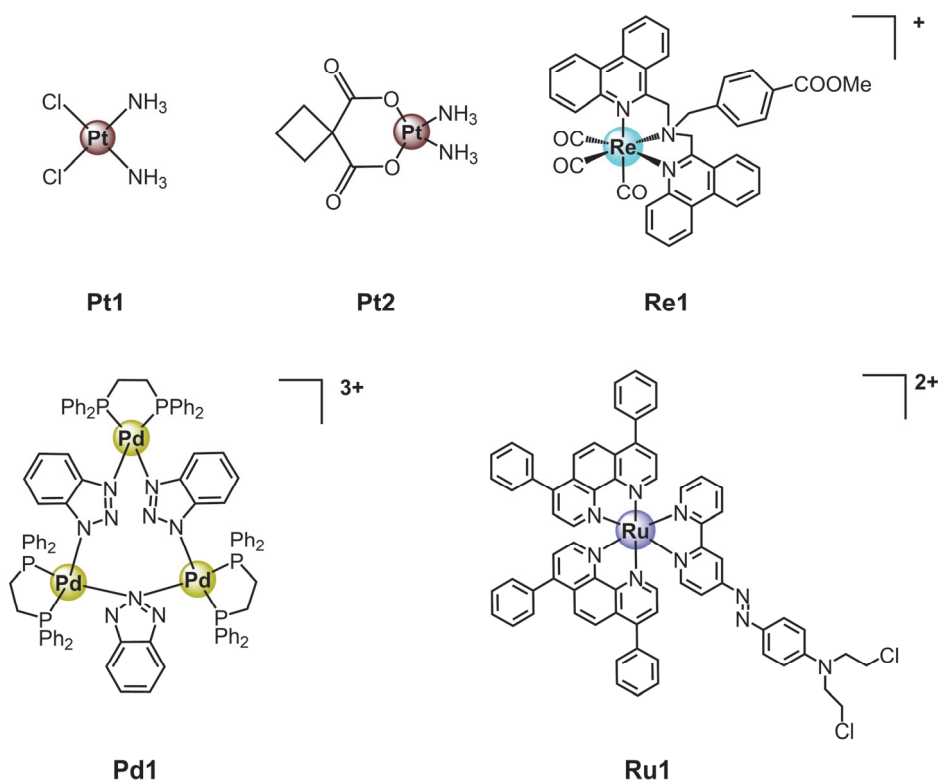


图1 诱导癌细胞凋亡金属药物的结构图

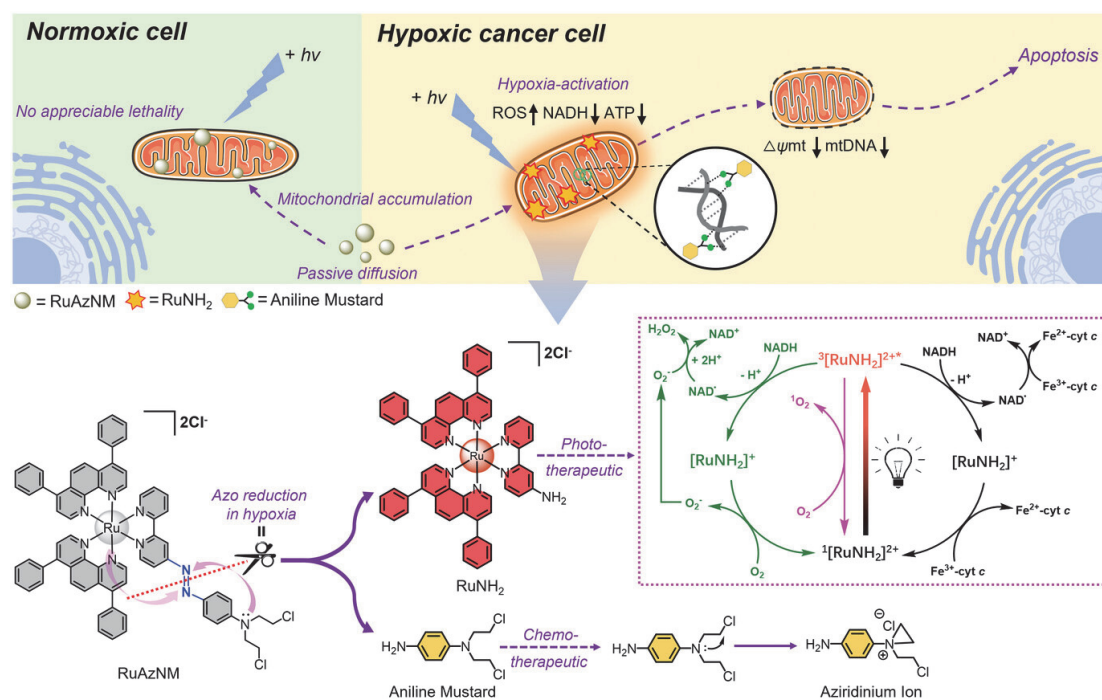
丰富的金属元素为扩充药物“弹药库”提供了更多的可能性，目前主流的金属药物研究集中在贵金属，它们大都通过凋亡途径诱导癌细胞死亡^[13]。例如，Ru(II/III)配合物已被广泛开发为铂类化疗药物的替代品。Ru金属配合物的毒副作用小、细胞膜透性强且光电性质丰富，因此其具有相当的开发潜力。

英国华威大学Peter Sadler教授团队近期报道了一种低氧激活、线粒体聚集的Ru(II)多吡啶前药(**Ru1**, 图1)^[14]，创新性地将金属基化合物开发为治疗缺氧肿瘤的多模式治疗剂。前药**Ru1**具有共轭偶氮(Az)和氮芥(NM)功能，对常氧细胞(尤其是YHL-3人类肝细胞)基本无毒。**Ru1**在缺氧环境激活后，能提高ROS水平，消耗还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)和三磷酸腺苷(ATP)，诱导线粒体膜和线粒体DNA损伤，最终导致细胞凋亡(图2)。

然而，科学家们近年来发现一些癌细胞能降低死亡受体、促凋亡蛋白和胱天蛋白酶(caspases)的表达，或使抗凋亡蛋白过表达^[15]，这使得部分癌细胞能够在机制上逃避细胞凋亡，导致药物的药效降低，不利于临床上的治疗。针对癌细胞对凋亡的逃避，开发可引起其他细胞死亡途径的金属药物，已成为对抗细胞凋亡耐药性的主要策略之一^[16]，下文将逐一介绍由金属药物诱导的非凋亡途径PCD。

2.2 坏死性凋亡

坏死性凋亡(Necroptosis)是由特定死亡受体如FAS、TNFR1或病原体识别受体(PRR)检测到细胞内或细胞外微环境扰动而引发的一种PCD形式^[6]。坏死性凋亡期间，可以观察到细胞器肿胀、细胞膜破裂和细胞核的分解。


 图2 Ru1及其激活后的作用机理示意图^[14]

与经典的细胞凋亡相比，坏死性凋亡不会形成凋亡小体，而是形成坏死小体(Necrosome)，坏死小体的核心成员是受体相互作用蛋白激酶1和3 (RIPK1、RIPK3)以及混合谱系激酶样蛋白(MLKL)。在机制上，坏死性凋亡不依赖于caspase，其信号通路的结构在较大程度上区别于细胞凋亡，并且细胞在发生坏死性凋亡后能够引起显著的炎症反应，所以对细胞凋亡具有抗性的肿瘤细胞可能对坏死性凋亡途径敏感，这导致了坏死性凋亡成为了一种新兴的治疗靶点^[17,18]。

目前已发现不少的金属药物可诱导坏死性凋亡，有研究发现无机盐也可以较高剂量时诱导坏死性凋亡。例如，20mM LiCl处理的RT4细胞表现出明显的线粒体肿胀、膜损伤和细胞核分解，并且在ROS抑制剂N-乙酰半胱氨酸(NAC)存在时提高了细胞存活率，表明LiCl诱导的坏死性凋亡与ROS的产生相关^[19]。

区别于上述2–3等Re(I)羰基药物，美国麻省理工学院Stephen Lippard教授团队报道了两种高价态的Re(V)配合物**Re2**和**Re3** (图3)，均能够有效触发坏死性凋亡从而杀死癌细胞^[20]。作者发现这两种配合物能够引起PI的摄取和RIPK1-RIPK3依赖性ROS的产生，同时还发现线粒体膜电位发生了变化，他们猜测这是ROS释放导致的下游效应。**Re2**和**Re3**对C57BL/6小鼠的细胞毒性较低，并能较稳定地存在于新鲜人血中，其对坏死性凋亡的成功诱导，为克服恶性肿瘤耐药性问题提供了新的可能。

英国莱斯特大学Kogularamanan Suntharalingam教授团队近期报道了一种Ni(II)配合物(**Ni1**, 图3)，能够在微摩尔剂量时诱导骨肉瘤干细胞(OSCs)发生坏死性凋亡，比抗癌症干细胞药物盐霉素表现出了高达7.7倍的细胞球效力。并且在前列腺素E2存在时，细胞毒性结果表明**Ni1**以环氧合酶(COX-2)依赖的方式杀死OSCs^[21]。结果表明，**Ni1**同时涉及了坏死性凋亡和COX-2作用机制。

中山大学巢晖教授课题组将环金属化的辅助配体引入Ru配合物(**Ru2**, 图3)^[22]，发现其能作为拓扑异构酶I和II的双重抑制剂，并有效诱导癌细胞发生坏死性凋亡，从而克服了肿瘤的耐药效果。**Ru2**对顺铂耐药癌细胞系(A549R和SGC-7901/DDP)显示出了显著的细胞毒性，并且作者通过使用不同死亡方式的抑制剂，确定了**Ru2**诱导的死亡方式为坏死性凋亡。接着，作者证实了**Ru2**能够抑制拓扑异构酶I和II，导致DNA的损伤和PARP-1的激活，随后通过激活RIPK1、RIPK3和MLKL诱导坏死性凋亡。最后，对A549R荷瘤小鼠进行的治疗实验证实**Ru2**具有良好的体内抗肿瘤活性。

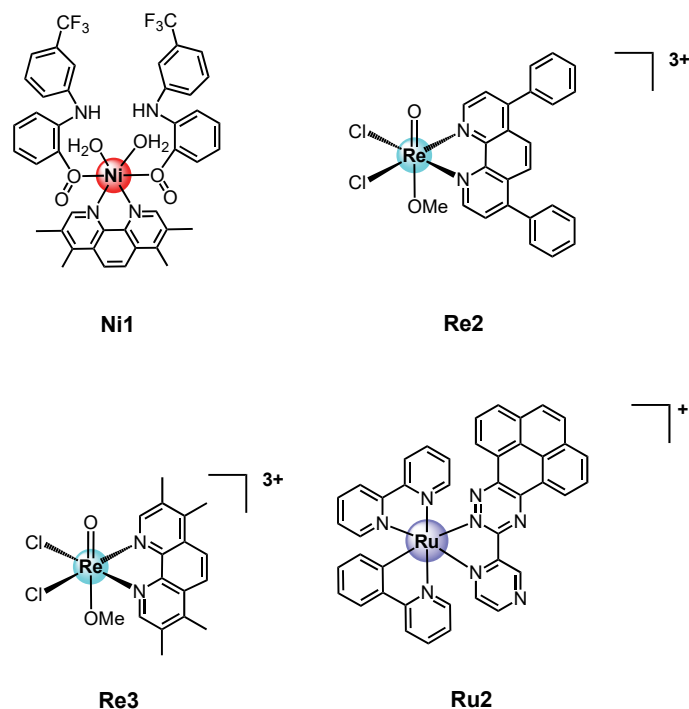


图3 诱导坏死性凋亡的金属药物结构图

2.3 焦亡

2001年, Cookson和Brennan教授将过去长期被误认为是细胞凋亡的一种死亡方式正式命名为细胞焦亡(Pyroptosis)^[23]。

尽管细胞焦亡在一定程度上与凋亡相似, 但其具有特定的形态特征和分子机制。细胞焦亡常常伴随着细胞膜上形成孔洞, 从而导致细胞渗透性增强、质膜裂解等现象的发生^[5]。2015年, 北京大学邵峰院士课题组揭示了信号通路中的关键分子gasdermin D (GSDMD)作为炎症性caspase底物来执行细胞焦亡的分子机制^[24]。GSDM家族蛋白被活化后会在细胞膜上打孔, 从而导致细胞膜破裂, 同时释放出炎症因子等物质。经典途径的焦亡依赖于caspase-1的激活, 而近年的研究表明焦亡也可由caspase-4,5或11直接切割GSDMD从而诱导焦亡^[6,16]。

2020年, Lieberman教授和北京大学刘志博教授先后发现并证实细胞焦亡途径具备抗肿瘤的免疫作用^[25,26], 因此科学家们尝试将靶向细胞焦亡途径的策略用于肿瘤免疫治疗, 金属药物诱导肿瘤细胞焦亡的相关研究也愈发关注药物带来的免疫作用。

中山大学毛宗万教授课题组提出了一种锚定碳酸酐酶IX(CAIX)的Re(I)光敏剂(**Re4**)^[27], 这是首例能够诱导细胞焦亡的金属配合物。作者通过扫描电子显微镜(SEM)证明**Re4**处理诱导的死亡方式不同于细胞凋亡。然后他们进一步探索了用**Re4**诱导的细胞焦亡的信号通路, 发现GSDMD-N和切割的caspase-1的表达随着照射时间的增加而增加, 表明细胞焦亡是通过caspase-1/GSDMD途径。后续建立了双侧4T1荷瘤小鼠模型, 以研究**Re4**的抑瘤作用和免疫应答。结果表明, 经**Re4**处理后可促进炎症细胞因子和损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)的分泌, 刺激树突状细胞(dendritic cell, DC)的成熟和T细胞的浸润, 有效地抑制原发性肿瘤和远端肿瘤(图4)。

近期有研究表明, 环状GMP-AMP合酶-干扰素基因刺激剂(cGAS-STING)通路能够增强细胞焦亡相关蛋白(如AIM2、caspase-1和caspase-11)的表达, 以放大宿主的防御反应^[28]。因此, 毛宗万教授团队设计了两种三苯胺Pt(II)配合物(**Pt3**和**Pt4**, 图5)作为cGAS-STING通路的光激活剂, 其能够有效诱导癌细胞发生焦亡。共定位实验结果表明**Pt3**和**Pt4**在无光时可靶向线粒体和内质网, 光照时可逐渐从细胞质转移到细胞核。作者通过透射电子显微镜(TEM)观察到细胞膜破裂、大量囊泡形成和

细胞内容物泄漏等形态特征，并且发现NSA(细胞焦亡和坏死性凋亡抑制剂)能够较有效抑制细胞死亡，说明Pt3和Pt4能够有效地诱导细胞焦亡^[29]。

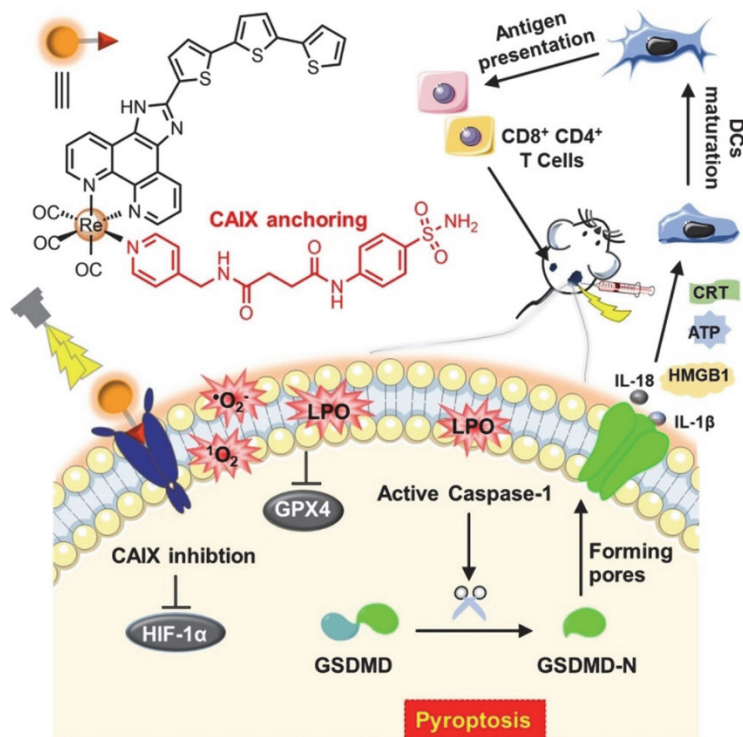


图4 CAIX锚定光敏剂Re4的化学结构及其光照下的作用机制示意图^[27]

西北工业大学医学院卫高菲副教授和沈阳药科大学刘洋教授课题组设计了一种Pt(IV)前药Pt5(图5)，也能够激活cGAS-STING通路和诱导癌细胞焦亡^[30]。作者探究了线粒体膜重塑对肿瘤细胞的影响，并发现Pt5能够下调线粒体蛋白Sam50的表达以促进线粒体膜重塑、mtDNA的释放和dsDNA的积累，从而激活cGAS-STING通路，增强了传统铂类药物的免疫激活能力。同时，Pt5进入细胞后产生的大量ROS能促进NLRP3炎症小体的成熟并诱导GSDMD介导的焦亡。

迄今为止，能够诱导焦亡的金属药物仍然较少^[7]。由于细胞焦亡和免疫之间的联系较为紧密，预计将会有更多用于免疫治疗的焦亡诱导金属药物被研发。

2.4 铁死亡

2012年，美国哥伦比亚大学的Brent Stockwell教授提出了一种铁依赖性脂质过氧化驱动细胞死亡形式——铁死亡(Ferroptosis)^[31]。由于一些耐药的癌细胞对铁死亡较为敏感，所以铁死亡的出现也为克服耐药性的癌症治疗开辟了一条新途径^[32]。

Stockwell教授发现铁死亡不同于细胞凋亡和其他形式的细胞死亡，经历铁死亡的细胞具有线粒体萎缩和膜密度增加的独特形态特征，并且铁死亡需要ROS达到一定的积累量。 Fe^{2+} 是铁死亡过程中的主要形式，在超出细胞承载能力后，过量的 Fe^{2+} 参与芬顿(Fenton)反应通过产生大量的ROS介导脂质过氧化，从而使细胞膜上的不饱和脂肪受到损伤，最终导致细胞发生铁死亡^[16,33]。

由于 Fe^{2+} 能介导Fenton反应而引起铁死亡， Fe(II) 配合物受到了不少关注，其中二茂铁受到了广泛的关注。起初，二茂铁常用于增强一些有机小分子药物的抗癌作用，如他莫昔芬、紫杉醇和尼鲁胺等^[34]。后来，其又被引入至抗癌配合物(Ir1和Ir2，图6)的主配体中，用以介导或增强铁死亡的发生^[35,36]。

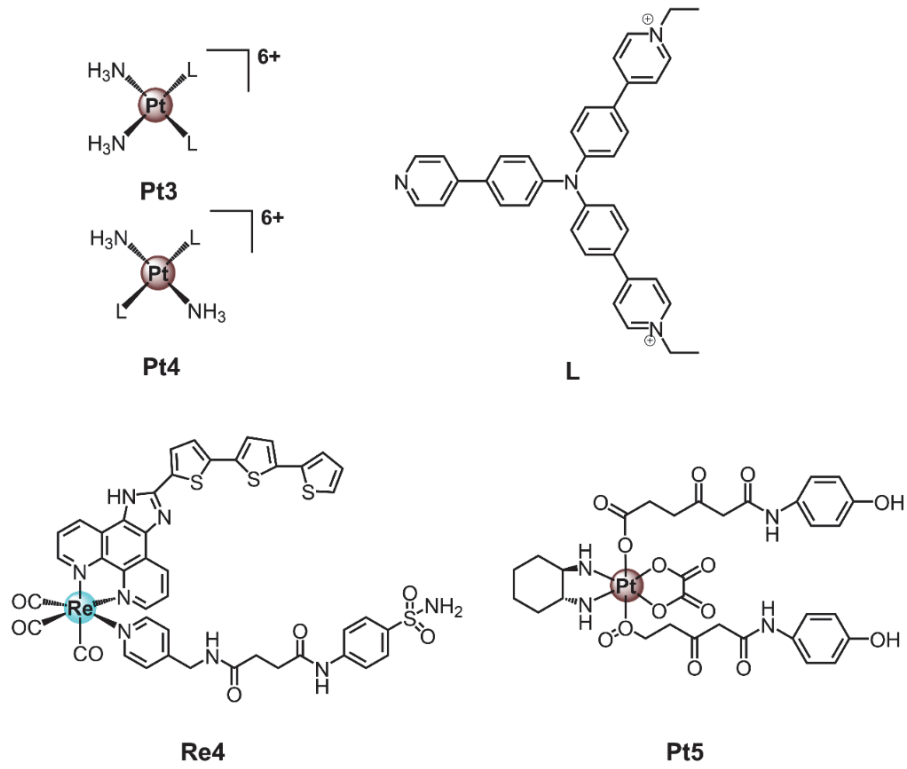


图5 诱导细胞焦亡的金属药物结构图

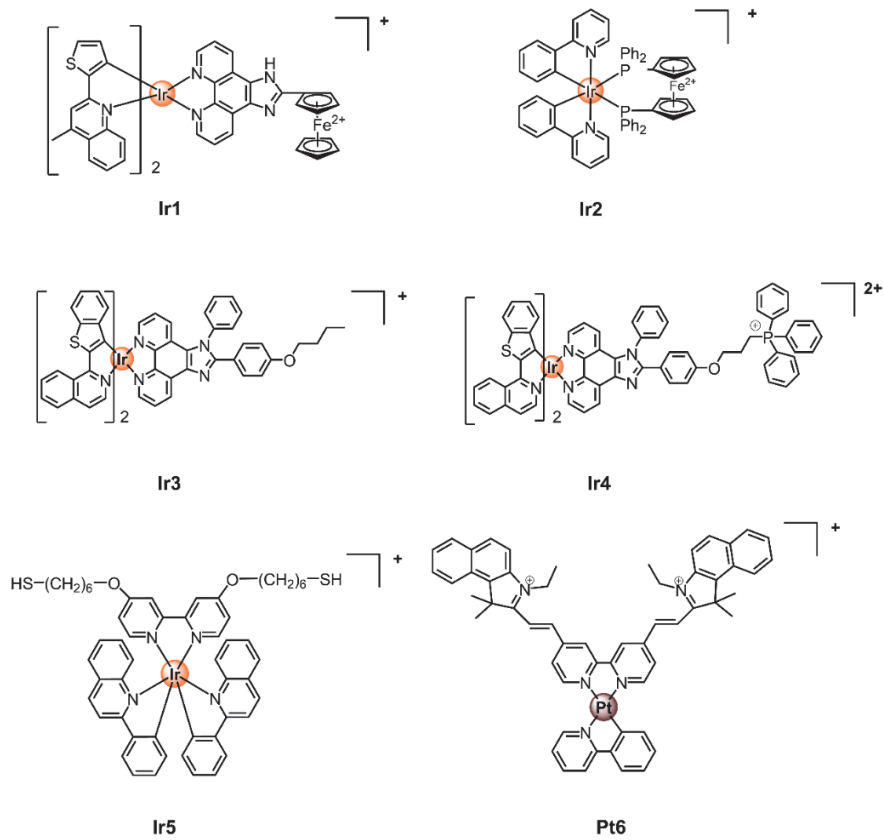


图6 诱导铁死亡的金属药物结构图

ROS的产生可以介导脂质过氧化,因此能有效产生多种ROS的光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)和声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)是很好的两种铁死亡诱导策略。而且,并非只有含有Fe的金属药物才能诱导铁死亡。南京大学郭子建院士课题组报道了两种可诱导铁死亡的铱光敏剂**Ir3**和**Ir4**(图6),能够通过I型光动力过程产生超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)和羟基自由基($\cdot\text{OH}$),从而引发脂质过氧化。其中,线粒体靶向的**Ir4**能够有效地诱导癌细胞发生铁死亡,从而对凋亡耐药的癌细胞株产生显著的抑制效果(图7)^[37]。

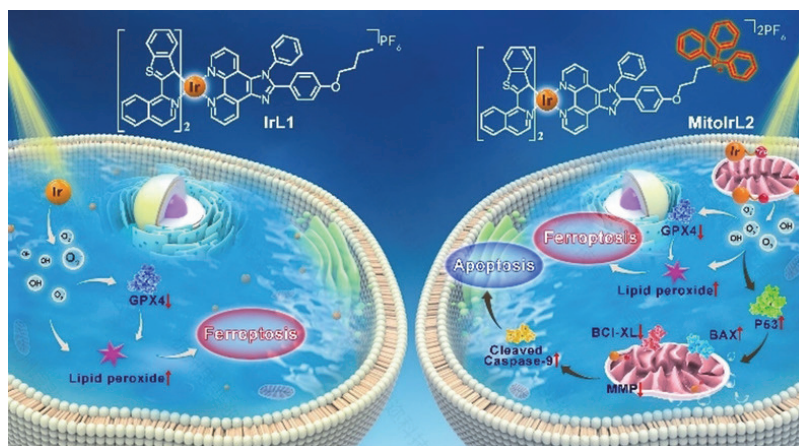


图7 **Ir3 (IrL1)**和**Ir4 (MitoIrL2)**的化学结构及其缺氧条件下诱导细胞死亡的示意图^[37]

近期,巢晖教授课题组开发了一种可生物降解的铱(III)配位聚合物单体**Ir5**(图6)^[38],在进行配位聚合后,将其组装成纳米颗粒**IrS NPs**,能在双光子光动力疗法中实现肿瘤抑制。**IrS NPs**在正常生理条件下保持稳定,但肿瘤细胞中高浓度的谷胱甘肽(GSH)可使二硫键断裂并释放出配合物单体,光照条件下可产生单线态氧($^1\text{O}_2$)和 $\cdot\text{O}_2^-$,触发细胞凋亡和铁死亡两种死亡途径,并且细胞内GSH的减少可加剧铁死亡。

深圳大学张平玉副教授课题组报道了一种花青-Pt(II)配合物(**Pt6**,图6)^[39],**Pt6**具有低的暗细胞毒性,可在超声条件下产生 $^1\text{O}_2$,显著降低细胞内的GSH和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)含量,进一步导致脂质过氧化物(LPO)积累并最终诱导铁死亡。此外,在体内肿瘤治疗时,**Pt6**的SDT效果比PDT效果表现出更优异的效果。

2.5 铜死亡

Cu(II)引起细胞死亡的确切形式一直存在争议,过去有不少研究人员大多认为它是细胞凋亡、自噬或铁死亡。直到2022年,Tsvetkov教授发现并证实了铜诱导细胞死亡的机制,并将这种死亡方式命名为铜死亡(Cuproptosis)^[40]。发生铜死亡的细胞会出现线粒体皱缩、内质网损伤和细胞膜破裂,这与凋亡过程的形态特征相似。但其机制明显区别于其他PCD,细胞内过量的 Cu^{2+} 可通过离子载体转运到线粒体,随后线粒体酶铁氧还蛋白1(FDX1)将Cu(II)还原为Cu(I)。增加的Cu(I)直接与三元羧酸(TCA)循环的脂肪化成分(如DLAT)结合,导致脂肪化蛋白聚集和Fe-S簇蛋白的不稳定,从而造成蛋白毒性应激,导致细胞死亡^[41]。

铜死亡被多项研究证明具有肿瘤治疗的潜力,由于过量的 Cu^{2+} 需要载体进行递送,所以其常常结合其他药物或治疗策略^[42]。例如,铜离子载体能够将铜转运到细胞内,从而增加细胞内铜含量并随后诱导细胞死亡,其中最常见铜离子载体为双硫仑(DSF)和伊利司莫(ES)。目前的相关研究多集中于开发同时结合铜离子和铜离子载体的纳米药物,以期通过铜死亡实现肿瘤治疗^[43,44]。

南京大学徐静娟教授团队构建了一种掺杂 Cu^{2+} 的介孔二氧化硅包裹且表面负载有DSF的金纳米棒**Au@MSN-Cu/PEG/DSF**^[45],能够在近红外光激发下释放 Cu^{2+} 和DSF, Cu^{2+} 能够有效还原为 Cu^+ ,

从而促进癌细胞铜死亡。作者发现在光照激发后，癌细胞的DLAT与LIAS表达水平明显降低，表明了 Cu^{2+} 通过与TCA循环的脂酰化成分直接结合导致脂酰化蛋白聚集，以及铁硫簇蛋白丢失而诱导癌细胞发生了铜死亡。体外和体内实验表明，其对健康组织的毒性可以忽略，而皮下荷瘤模型的肿瘤生长抑制率达到80.9% (图8)。

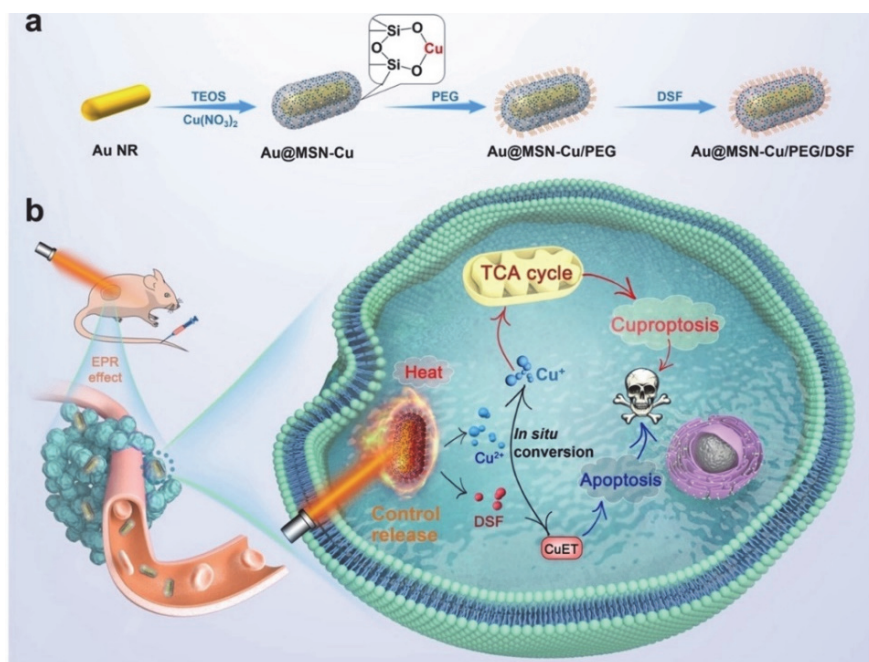


图8 Au@MSN-Cu/PEG/DSF的制备过程及其肿瘤治疗功能^[45]

中山大学附属第七医院潘逸航教授课题组报道了一种层状无孔Cu(I)配位聚合物包覆葡萄糖氧化酶(GOx)的纳米材料 $\text{GOx}@\text{[Cu(tz)]}$ ^[46]。作者发现，铜死亡抑制剂(UK 5099和抗霉素A)和铜螯合剂(二磺酸)能够有效抑制细胞死亡，说明药物诱导癌细胞发生了铜依赖性的死亡方式。只有在癌细胞中较高浓度的GSH刺激时，GOx才会催化葡萄糖氧化产生 H_2O_2 ，实现癌症饥饿治疗。并且，该纳米药物分解释放的Cu(I)能与 H_2O_2 反应产生 $\cdot\text{OH}$ 从而有效杀伤癌细胞。

最近有相关研究表明铜死亡相关基因(如脂肪酸转移酶1)与免疫细胞浸润有关，表明了铜死亡在免疫疗法中存在的潜力^[47]。首都医科大学刑念增教授课题组设计了一种ROS敏感的聚合物(PHPM)，将其用于包覆ES和Cu从而形成纳米粒子 NP@ESCu ，不仅可以通过铜死亡途径有效杀死膀胱癌细胞(BIU-87)，而且可以激活免疫应答。作者研究发现， NP@ESCu 可以有效促进DC细胞成熟，并提高M1巨噬细胞和M2巨噬细胞的比值^[48]。

相对其他PCD来说，铜死亡是一种新颖的死亡方式，目前还未得到较充分的探索。但铜纳米药物具有成本相对较低、组成多样和较高催化活性等优点，并且铜死亡带来的免疫效应让其更具深入研究的必要。

2.6 胀亡

科学家很早前就发现了一种涉及细胞肿胀和细胞质凝固的死亡方式，这在形态学上区别于凋亡的细胞收缩。但是直到1995年，Majno和Joris教授才明确定义了胀亡(Oncosis)，将其视为一种细胞死亡途径^[49]。

细胞胀亡在形态学上明显区别于其他死亡方式，其最明显的特征是细胞和细胞器肿胀，同时会伴随线粒体凝集、细胞骨架塌陷和质膜起泡且通透性增加等现象。最终会导致细胞内容物如炎性细胞因子的泄漏，这些炎性细胞因子可以通过炎症或免疫系统刺激损伤周围细胞。

尽管细胞胀亡兼具抗耐药性和免疫原性，但与其他PCD相比，目前发现能够诱导细胞胀亡的金属药物仍然较少。2018年，巢晖教授课题组发现了一系列能够诱导A549R发生细胞胀亡的环金属Ir(III)配合物(**Ir6–Ir9**，图9)。这一系列Ir配合物具备线粒体靶向和较高的癌细胞选择性，均能对耐药细胞系产生较高的细胞毒性(IC₅₀值为500 nM)。细胞形态的肿胀、细胞质空泡化、Bcl-2 : Bax比率上升和细胞骨架塌陷等现象证实了细胞胀亡的成功诱导^[50]。

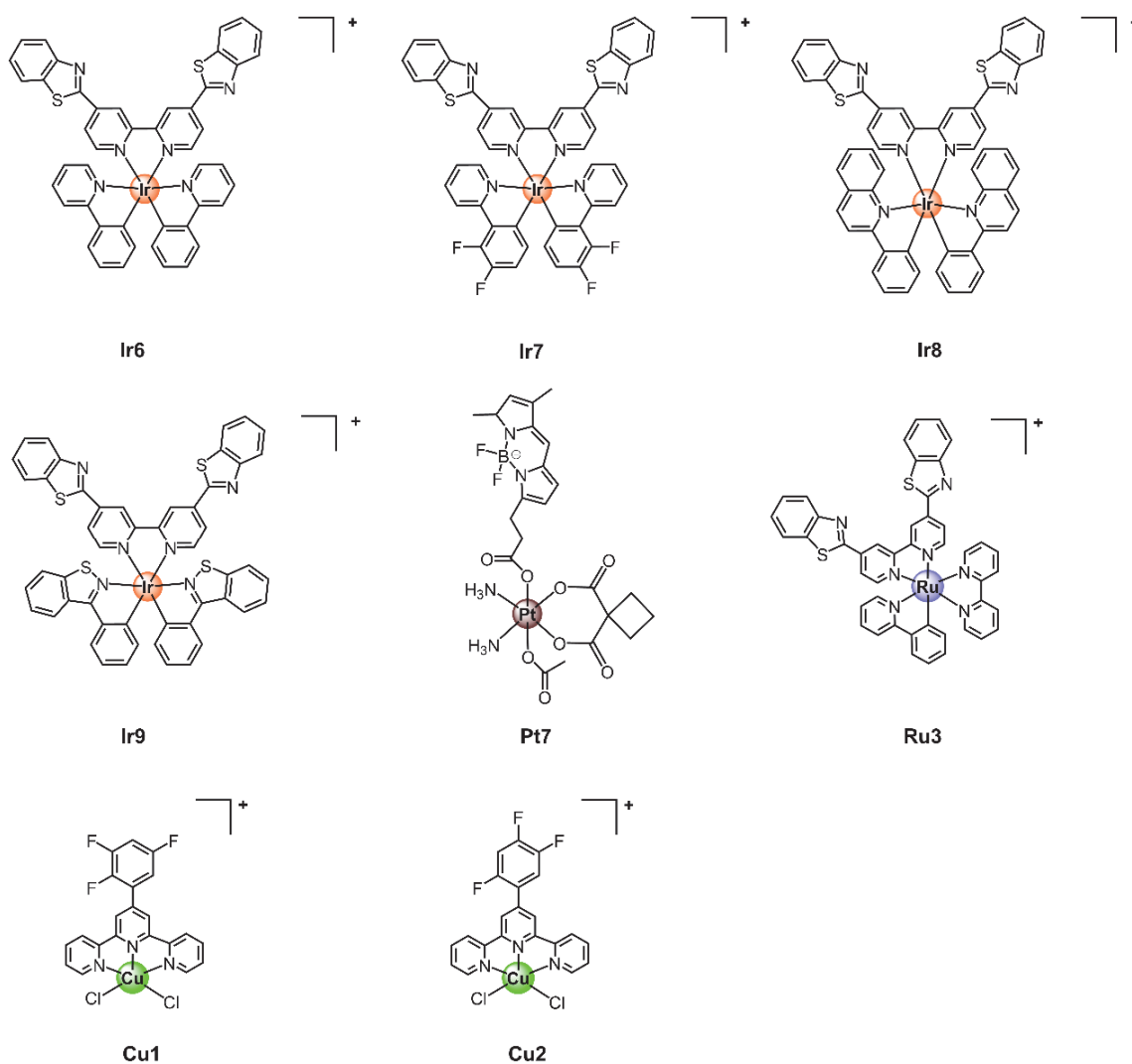


图9 诱导细胞胀亡的金属药物结构图

区别于常诱导凋亡途径的Pt(II)药物，香港城市大学朱光宇教授课题组设计并合成了一种基于卡铂的Pt(IV)前药(**Pt7**，图9)，在轴向位置连接了硼二吡咯甲基，令该配体充当光吸收剂以激活前药。**Pt7**在黑暗中高度稳定，但在绿光照射下迅速活化，释放卡铂和轴向配体。细胞毒性实验表明，**Pt7**对MCF-7细胞具有明显的杀伤作用，其细胞毒性是黑暗条件下的11倍，是卡铂的39倍。此外，作者通过PI染色β-肌动蛋白和α-微管蛋白表达量的下降证明了2-通过与基因组DNA结合，阻止G2/M期的细胞周期，诱导细胞胀亡(图10)^[51]。

近期，巢晖教授课题组报道了两种铜配合物(**Cu1**和**Cu2**，图9)，用天然纳米载体去铁蛋白(apoferritin, Aft)封装得到的**Aft-Cu1**和**Aft-Cu2**可以靶向细胞核并诱导细胞胀亡^[52]。作者使用TEM观察到**Aft-Cu1**和**Aft-Cu2**处理后的SW620/AD300细胞线粒体发生肿胀，并且后续的Western Blot结果

表明胀亡特异蛋白Porimin的表达量上升,说明其可以有效诱导细胞胀亡从而克服多药耐药性(MDR)。此外,巢晖教授课题组设计并合成了一系列功能化Ru(II)配合物,其中Ru3(图9)可选择性地富集在线粒体和细胞核中并损伤DNA。DNA受到损伤后,会激活并招募DNA修复蛋白(PARP1)以介导DNA的修复,这一过程迅速消耗ATP,而胞内ATP的迅速耗竭会激活Porimin蛋白。同时,线粒体DNA的损伤会导致氧化应激和线粒体膜电位丧失,进一步促使内质网应激,从而增加细胞内Ca²⁺浓度。Ca²⁺不仅进一步消耗ATP,而且能激活Calpain 1蛋白。胀亡标志性蛋白Porimin和Calpain 1能够促使细胞膜形成空泡,从而引发癌细胞胀亡^[53]。

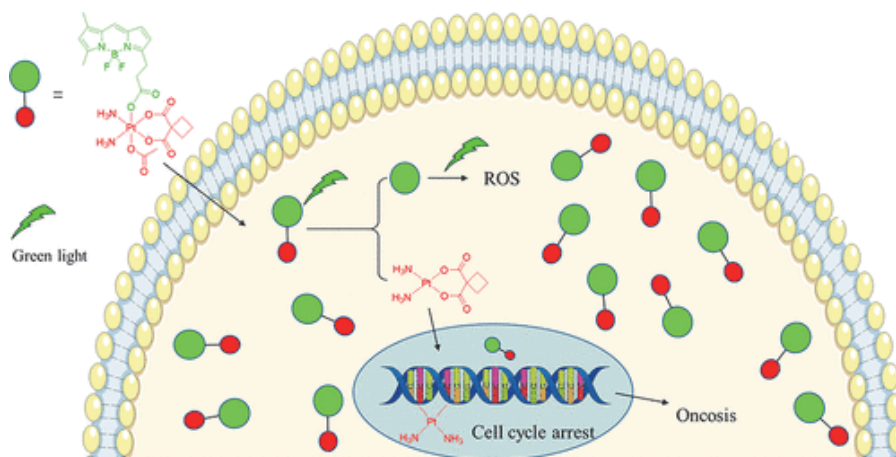


图10 Pt7诱导细胞胀亡的作用机理示意图^[51]

2.7 免疫原性死亡

近年来,科学家们对Guido Kroemer教授于2005年发现的免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD)颇感兴趣^[54-56]。ICD区别于其他PCD的主要特征表现在其特殊的分子机制和特殊功能,ICD的诱导会伴随大量DAMPs的暴露和释放,可以针对死亡细胞表达的内源性(细胞)或外源性(病毒)抗原而激活机体的特异性免疫^[6]。ICD的诱导有助于机体建立长期的抗肿瘤免疫,从而阻止癌细胞的增殖和逃避。

具体来谈,ICD诱导剂可以导致内质网应激,从而阻碍癌细胞的蛋白转录。正因如此,钙网蛋白(CRT)及其伴侣蛋白会通过胞吐作用易位到细胞外膜上,并且在细胞死亡期间,会释放ATP以更好地吸引DC细胞。在后期,由于细胞膜受到损伤而增强通透性,所以能够检测到高迁移率族蛋白B1(HMGB1)的分泌。

2010年,Kroemer教授首次发现奥沙利铂(Pt8,图11)可以在结肠癌细胞中通过引发ICD介导免疫应答^[57]。目前,美国食品药品监督管理局(FDA)已经批准奥沙利铂投入临床使用。2019年,维也纳大学Keppler教授首先发现了钌配合物KP1339(Ru4,图11)能够在体外诱导结直肠球体诱导ICD,Ru4也是临床开发中用于治疗实体癌的第一种钌抗癌药物^[58,59]。

近年来,作为潜在ICD诱导剂进行测试的小分子药物数量大幅增加,目前许多研究工作致力于开发具有细胞毒性的诱导剂,并且可以触发DAMPs的释放,从而激活机体的免疫应^[60,61]。目前,不少新颖的Pt(IV)药物已被报道为ICD诱导剂。

巢晖教授课题组报道了一种A549内质网靶向的Ir(III)配合物(Ir10,图11),该配合物在非小细胞肺癌中通过诱导ICD产生了免疫调节反应^[62]。在体外细胞实验中,作者选取了无ICD诱导能力的顺铂作为阴性对照,使用流式细胞仪对CRT暴露进行了定量的研究,证实了Ir10诱导A549细胞发生的ICD在24小时具有剂量依赖性。并且,作者用小鼠肺癌细胞(LLC)对C57BL/6J雌性小鼠进行了疫苗接种实验,达到了癌症免疫治疗的金标准(图12)。

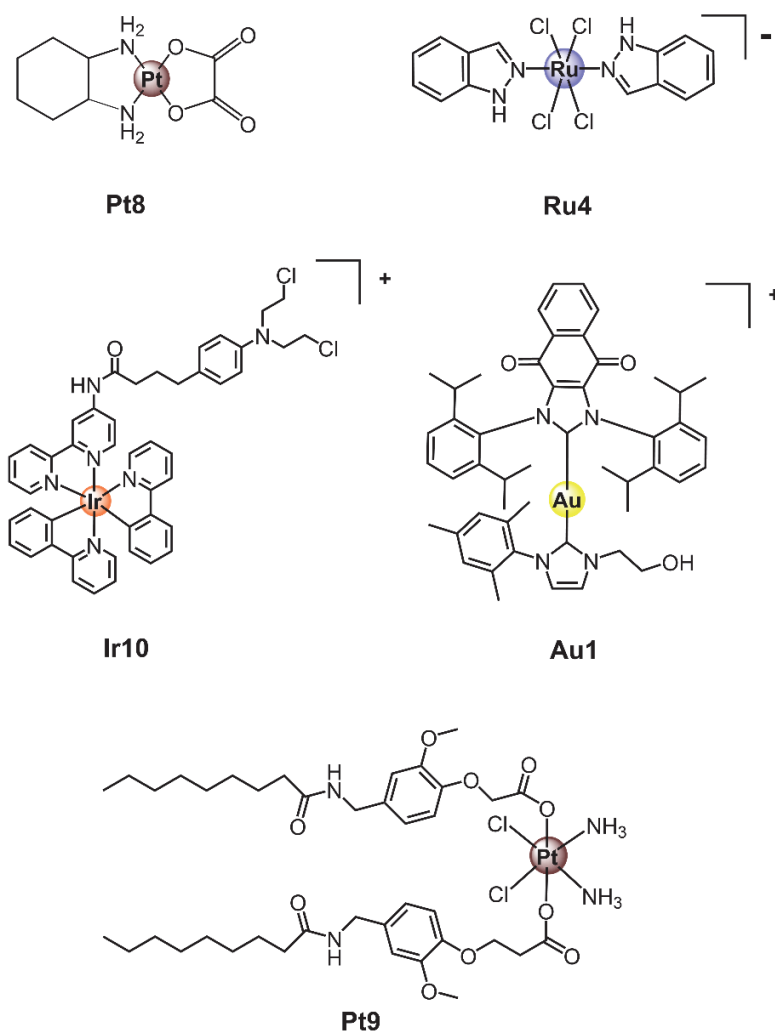


图11 用于诱导ICD的金属药物结构图

美国得克萨斯大学奥斯汀分校Jonathan Arambula教授团队设计合成了一种Au(I)双N-杂环卡宾配合物(**Au1**, 图11), 其可在体外和体内有效诱导ICD^[63]。**Au1**能通过两种作用模式靶向抗氧化网络, 并且其能够上调内质网应激的相关基因, 作者推测正是这二者为ICD的诱导提供了合理的途径。流式细胞术结果显示 $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的**Au1**可以导致CT26细胞的细胞膜CRT易位, 其水平与24小时处理后用 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 奥沙利铂处理的细胞中观察到的结果相似。同样地, **Au1**处理后的癌细胞释放ATP和HMGB1的水平也显著强于奥沙利铂。BALB/c小鼠体内实验表明, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ **Au1**在延缓肿瘤生长的效果明显优于 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的奥沙利铂, 更高浓度的**Au1**可直接根除小鼠的肿瘤。南京大学王晓勇教授课题组合成了一种以辣椒素衍生物作为轴向配体的Pt(IV)配合物**Pt9** (图11), 在PANC-1、MCF-7和HepG2癌细胞中表现出了显著的细胞毒性。在PANC-1细胞中, **Pt9**除了对癌细胞造成DNA损伤以外, 还引起了CRT的易位以及ATP和HMGB1的释放, 成功诱导了ICD^[64]。同时, **Pt9**处理的PANC-1细胞还促进了外周血单个核细胞释放促炎细胞因子IFN- γ 和TNF- α 以诱导免疫应答。

由于单一治疗方式存在局限性, 越来越多的研究致力于开发多模式治疗剂。最近的研究表明, 用于化疗的ICD诱导剂可以与铁死亡或铜死亡诱导剂协同治疗肿瘤^[60]。毛宗万教授课题组报道了溶酶体靶向的二茂铁修饰二膦配体铈(III)配合物**Ir2** (图6)^[36], 能同时诱导铁死亡和ICD。在溶酶体的酸性环境下, **Ir2**能有效地催化类芬顿反应, 从而产生羟基自由基, 诱导脂质过氧化物的发生, 进而诱

导铁死亡。RNA序列分析表明Ir2可显著影响铁死亡和癌症免疫的相关通路，说明了Ir2在体外可诱导ICD，抑制肿瘤生长，调节体内T细胞活性和免疫微环境。

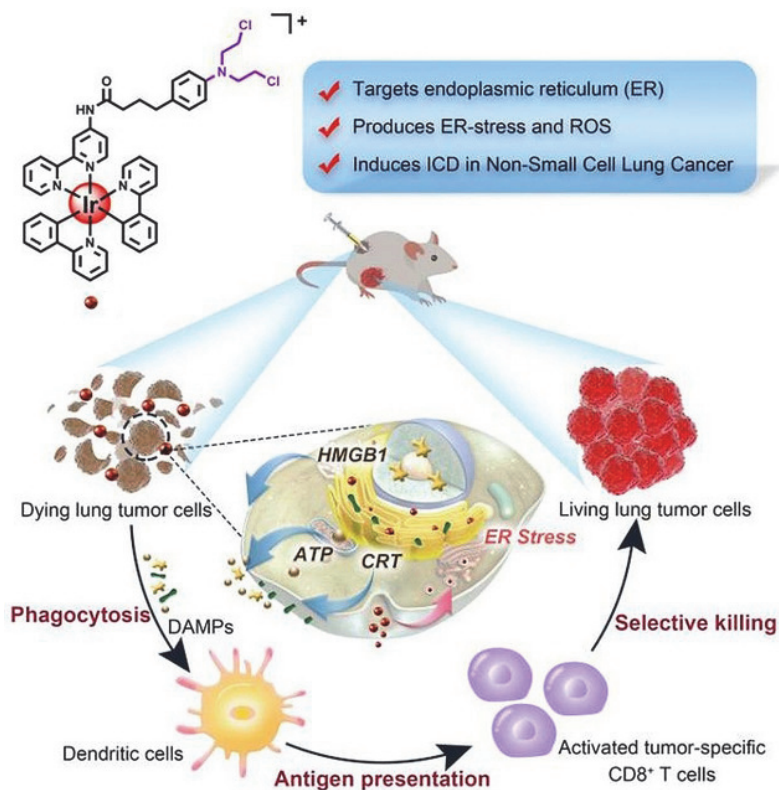


图12 内质网靶向铱配合物Ir10诱导ICD的作用机制示意图^[63]

3 结语

由于PCD能被药物通过特定信号通路进行干预，并且不少PCD模式与免疫系统的关系相当密切，靶向PCD以实现肿瘤治疗已成为一类各具潜力的手段。PCD为金属药物提供了大量靶点，金属药物在过去已被证明能够调节肿瘤免疫微环境、诱发炎症反应和激活免疫反应等，其在抗肿瘤治疗中展现了深厚的潜力。

在抗肿瘤机制上，由于PCD往往涉及复杂的信号通路，所以设计金属药物以激活特定的细胞死亡通路仍是一大挑战，并且金属药物在抗肿瘤治疗中的构效关系仍有待进一步研究。尽管已有不少金属药物已被批准投入临床使用，但临床中使用的金属药物仍存在不少的局限之处，如毒副作用大或癌细胞产生耐药性导致药效下降，所以目前迫切需要开发更适用于临床的金属抗肿瘤药物。相信随着更新颖的金属药物被逐步设计和合成，以及对纳米递送和协同治疗等治疗策略展开更深入的研究，我们将有望在不久的将来克服目前临床中的局限。

参 考 文 献

- [1] Ndagi, U.; Mhlongo, N.; Soliman, M. E. *Drug Des. Dev. Ther.* **2017**, *11*, 599.
- [2] Rosenberg, B.; Vancamp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H. *Nature* **1969**, *222* (5191), 385.
- [3] Jungwirth, U.; Kowol, C. R.; Keppler, B. K.; Hartinger, C. G.; Berger, W.; Heffeter, P. *Antioxid. Redox Signal.* **2011**, *15* (4), 1085.
- [4] Tang, D.; Kang, R.; Berghe, T. V.; Vandenabeele, P.; Kroemer, G. *Cell Res.* **2019**, *29* (5), 347.

- [5] Peng, F.; Liao, M.; Qin, R.; Zhu, S.; Peng, C.; Fu, L.; Chen, Y.; Han, B. *Signal Transduction Targeted Ther.* **2022**, *7* (9), 3283.
- [6] Galluzzi, L.; Vitale, I.; Aaronson, S. A.; Abrams, J. M.; Adam, D.; Agostinis, P.; Alnemri, E. S.; Altucci, L.; Amelio, I.; Andrews, D. W.; *et al.* *Cell Death Differ.* **2018**, *25* (3), 486.
- [7] Peng, K.; Zheng, Y.; Xia, W.; Mao, Z.-W. *Chem. Soc. Rev.* **2023**, *52* (8), 2790.
- [8] Kerr, J. F.; Wyllie, A. H.; Currie, A. R. *Br. J. Cancer* **1972**, *26* (4), 239.
- [9] Ghosh, S. *Bioorg. Chem.* **2019**, *88*, 102925.
- [10] König, M.; Siegmund, D.; Raszeja, L. J.; Prokop, A.; Metzler-Nolte, N. *MedChemComm* **2018**, *9* (1), 173.
- [11] Plaks, V.; Kong, N.; Werb, Z. *Cell Stem Cell* **2015**, *16* (3), 225.
- [12] Eskandari, A.; Kundu, A.; Johnson, A.; Karmakar, S.; Ghosh, S.; Suntharalingam, K. *Dalton Trans.* **2020**, *49* (14), 4211.
- [13] Medici, S.; Peana, M.; Nurchi, V. M.; Lachowicz, J. I.; Crisponi, G.; Zoroddu, M. A. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *284*, 329.
- [14] Liu, J. P.; Prentice, A. W.; Clarkson, G. J.; Woolley, J. M.; Stavros, V. G.; Paterson, M. J.; Sadler, P. J. *Adv. Mater.* **2023**, *35* (19), 2210363.
- [15] Wong, R. S. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2011**, *30*, 1.
- [16] Hadian, K.; Stockwell, B. R. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2023**, *22* (9), 723.
- [17] Su, Z.; Yang, Z.; Xie, L.; DeWitt, J.; Chen, Y. *Cell Death Differ.* **2016**, *23* (5), 748.
- [18] Wu, Y.; Dong, G.; Sheng, C. *Acta Pharm. Sin. B* **2020**, *10* (9), 1601.
- [19] Wang, Y.; Zhang, Q.; Wang, B.; Li, P.; Liu, P. *Neurochem. Res.* **2017**, *42*, 2363.
- [20] Suntharalingam, K.; Awuah, S. G.; Bruno, P. M.; Johnstone, T. C.; Wang, F.; Lin, W.; Zheng, Y.-R.; Page, J. E.; Hemann, M. T.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (8), 2967.
- [21] Passeri, G.; Northcote-Smith, J.; Perera, R.; Gubic, N.; Suntharalingam, K. *Molecules* **2022**, *27* (10), 3277.
- [22] Xiong, K.; Qian, C.; Yuan, Y.; Wei, L.; Liao, X.; He, L.; Rees, T. W.; Chen, Y.; Wan, J.; Ji, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59* (38), 16631.
- [23] Cookson, B. T.; Brennan, M. A. *Trends Microbiol.* **2001**, *9* (3), 113.
- [24] Shi, J.; Zhao, Y.; Wang, K.; Shi, X.; Wang, Y.; Huang, H.; Zhuang, Y.; Cai, T.; Wang, F.; Shao, F. *Nature* **2015**, *526* (7575), 660.
- [25] Wang, Q.; Wang, Y.; Ding, J.; Wang, C.; Zhou, X.; Gao, W.; Huang, H.; Shao, F.; Liu, Z. *Nature* **2020**, *579* (7799), 421.
- [26] Zhang, Z.; Zhang, Y.; Xia, S.; Kong, Q.; Li, S.; Liu, X.; Junqueira, C.; Meza-Sosa, K. F.; Mok, T. M. Y.; Ansara, J.; *et al.* *Nature* **2020**, *579* (7799), 415.
- [27] Su, X.; Wang, W. J.; Cao, Q.; Zhang, H.; Liu, B.; Ling, Y.; Zhou, X.; Mao, Z. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61* (8), e202115800.
- [28] Murthy, A. M.; Robinson, N.; Kumar, S. *Cell Death Differ.* **2020**, *27* (11), 2989.
- [29] Ling, Y. Y.; Xia, X. Y.; Hao, L.; Wang, W. J.; Zhang, H.; Liu, L. Y.; Liu, W.; Li, Z. Y.; Tan, C. P.; Mao, Z. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *134* (43), e202210988.
- [30] Fan, R.; Lin, R.; Zhang, S.; Deng, A.; Hai, Y.; Zhuang, J.; Liu, Y.; Cheng, M.; Wei, G. *Acta Pharm. Sin. B* **2024**, *14* (4), 1742.
- [31] 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.; *et al.* *Cell* **2012**, *149* (5), 1060.
- [32] Li, S.; Yuan, H.; Chen, Y.; Guo, Z. *Fundam. Res.* **2023**, *3* (4), 525.
- [33] Tang, D.; Chen, X.; Kang, R.; Kroemer, G. *Cell Res.* **2021**, *31* (2), 107.
- [34] Liu, K.; Huang, L.; Qi, S.; Liu, S.; Xie, W.; Du, L.; Cui, J.; Zhang, X.; Zhang, B.; Liu, L. *Adv. Healthcare Mater.* **2023**, *12* (12), 2203085.
- [35] Ling, Y. Y.; Wang, W. J.; Hao, L.; Wu, X. W.; Liang, J. H.; Zhang, H.; Mao, Z. W.; Tan, C. P. *Small* **2022**, *18* (49), 2203659.
- [36] Wang, W. J.; Ling, Y. Y.; Zhong, Y. M.; Li, Z. Y.; Tan, C. P.; Mao, Z. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61* (16), e202115247.
- [37] Yuan, H.; Han, Z.; Chen, Y. C.; Qi, F.; Fang, H. B.; Guo, Z. J.; Zhang, S. R.; He, W. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60* (15), 8174.
- [38] Ke, L. B.; Wei, F. M.; Xie, L. N.; Karges, J.; Chen, Y.; Ji, L. N.; Chao, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61* (28), e202205429.
- [39] Lai, Y.; Lu, N.; Ouyang, A.; Zhang, Q.; Zhang, P. *Chem. Sci.* **2022**, *13* (34), 9921.
- [40] Tsvetkov, P.; Coy, S.; Petrova, B.; Dreishpoon, M.; Verma, A.; Abdusamad, M.; Rossen, J.; Joesch-Cohen, L.; Humeidi, R.; Spangler, R. D. *Science* **2022**, *375* (6586), 1254.
- [41] Xie, J.; Yang, Y.; Gao, Y.; He, J. *Mol. Cancer* **2023**, *22* (1), 46.

- [42] Xue, Q.; Kang, R.; Klionsky, D. J.; Tang, D.; Liu, J.; Chen, X. *Autophagy* **2023**, *19* (8), 2175.
- [43] Ji, P.; Wang, P.; Chen, H.; Xu, Y.; Ge, J.; Tian, Z.; Yan, Z. *Pharmaceuticals* **2023**, *16* (2), 234.
- [44] Tang, D.; Kroemer, G.; Kang, R. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2024**, *21*(5), 370.
- [45] Zhou, J.; Yu, Q.; Song, J.; Li, S.; Li, X. L.; Kang, B.; Chen, H. Y.; Xu, J. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62* (12), e202213922.
- [46] Xu, Y.; Liu, S. Y.; Zeng, L.; Ma, H.; Zhang, Y.; Yang, H.; Liu, Y.; Fang, S.; Zhao, J.; Xu, Y. *Adv. Mater.* **2022**, *34* (43), 2204733.
- [47] Lv, H.; Liu, X.; Zeng, X.; Liu, Y.; Zhang, C.; Zhang, Q.; Xu, J. *Front. Pharmacol.* **2022**, *13*, 930041.
- [48] Guo, B.; Yang, F.; Zhang, L.; Zhao, Q.; Wang, W.; Yin, L.; Chen, D.; Wang, M.; Han, S.; Xiao, H. *Adv. Mater.* **2023**, *35* (22), 2212267.
- [49] Weerasinghe, P.; Buja, L. M. *Exp. Mol. Pathol.* **2012**, *93* (3), 302.
- [50] Guan, R.; Chen, Y.; Zeng, L.; Rees, T. W.; Jin, C.; Huang, J.; Chen, Z.-S.; Ji, L.; Chao, H. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (23), 5183.
- [51] Yao, H.; Chen, S.; Deng, Z.; Tse, M.-K.; Matsuda, Y.; Zhu, G. *Inorg. Chem.* **2020**, *59* (16), 11823.
- [52] Xiong, K.; Lin, X.; Kou, J.; Wei, F.; Shen, J.; Chen, Y.; Ji, L.; Chao, H. *Adv. Healthcare Mater.* **2024**, *13* (5), 2302564.
- [53] Feng, T.; Tang, Z.; Shu, J.; Wu, X.; Jiang, H.; Chen, Z.; Chen, Y.; Ji, L.; Chao, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2024**, *63* (31), e202405679.
- [54] Casares, N.; Pequignot, M. O.; Tesniere, A.; Ghiringhelli, F.; Roux, S.; Chaput, N.; Schmitt, E.; Hamai, A.; Hervas-Stubbs, S.; Obeid, M.; *et al.* *J. Exp. Med.*, **2005**, *202* (12), 1691.
- [55] Zhang, L. P.; Montesdeoca, N.; Karges, J.; Xiao, H. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62* (21), e202300662.
- [56] Galluzzi, L.; Buqué, A.; Kepp, O.; Zitvogel, L.; Kroemer, G. *Nat. Rev. Immunol.* **2017**, *17* (2), 97.
- [57] Tesniere, A.; Schlemmer, F.; Boige, V.; Kepp, O.; Martins, I.; Ghiringhelli, F.; Aymeric, L.; Michaud, M.; Apetoh, L.; Barault, L.; *et al.* *Oncogene* **2010**, *29* (4), 482.
- [58] Trondl, R.; Heffeter, P.; Kowol, C. R.; Jakupec, M. A.; Berger, W.; Keppler, B. K. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (8), 2925.
- [59] Wernitznig, D.; Kiakos, K.; Del Favero, G.; Harrer, N.; Machat, H.; Osswald, A.; Jakupec, M. A.; Wernitznig, A.; Sommergruber, W.; Keppler, B. K. *Metallomics* **2019**, *11* (6), 1044.
- [60] Zhang, L.; Montesdeoca, N.; Karges, J.; Xiao, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62* (21), e202300662.
- [61] Sen, S.; Won, M.; Levine, M. S.; Noh, Y.; Sedgwick, A. C.; Kim, J. S.; Sessler, J. L.; Arambula, J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2022**, *51* (4), 1212.
- [62] Wang, L. L.; Guan, R. L.; Xie, L. N.; Liao, X. X.; Xiong, K.; Rees, T. W.; Chen, Y.; Ji, L. N.; Chao, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60* (9), 4657.
- [63] Sen, S.; Hufnagel, S.; Maier, E. Y.; Aguilar, I.; Selvakumar, J.; DeVore, J. E.; Lynch, V. M.; Arumugam, K.; Cui, Z.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (49), 20536.
- [64] Sun, Y.; Yin, E.; Tan, Y.; Yang, T.; Song, D.; Jin, S.; Guo, Z.; Wang, X. *Dalton Trans.* **2021**, *50* (10), 3516.