

## 铜配合物在抗肿瘤治疗中的研究进展

杨煜雲<sup>1,2</sup>, 黄艳利<sup>1,3</sup>, 李军政<sup>1,4</sup>

1. 贵州医科大学 临床医学院, 贵州 贵阳 550004
2. 暨南大学附属广州红十字会医院 耳鼻咽喉头颈外科, 广东 广州 510220
3. 湖北省仙桃市第一人民医院耳鼻咽喉科, 湖北 仙桃 433000
4. 南方医科大学珠江医院 耳鼻咽喉头颈外科中心, 广东 广州 510280

**摘要:**铜是人体必需元素之一, 广泛参与着人体内各项生命活动, 其稳态在原核细胞和真核细胞中受到严格调节, 以确保有足够的铜用于蛋白质的生物合成, 并抑制氧化应激的产生和毒性。铜已被公认为限制癌症发生发展的因素之一, 因此, 通过调节人体内铜含量从而影响肿瘤的发生发展已逐步成为肿瘤治疗的热点之一, 其可分为通过含铜化合物或铜离子载体来增加肿瘤细胞中的铜浓度和通过铜络合剂将铜浓度降低至生理水平, 从而达到抗肿瘤治疗。论文针对铜配合物在肿瘤治疗中的现状与进展作一简要概述, 包括已知的作用机制、分子靶点, 讨论相关的临床试验, 对其前景进行展望。

**关键词:**铜配合物; 抗肿瘤治疗; 铜死亡; 铜离子载体

**中图分类号:**R73 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-3770(2024)05-0145-08

**引用格式:**杨煜雲, 黄艳利, 李军政, 等. 铜配合物在抗肿瘤治疗中的研究进展[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2024, 38(5):145-152. YANG Yuyun, HUANG Yanli, LI Junzhen, et al. Research progress of Copper complexes for antitumor therapy[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(5):145-152.

### Research progress of Copper complexes for antitumor therapy

YANG Yuyun<sup>1,2</sup>, HUANG Yanli<sup>1,3</sup>, LI Junzhen<sup>1,4</sup>

1. Clinical Medical College of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China
2. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital of Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong, China
3. Department of Otolaryngology, The First People's Hospital of Xiantao City, Xiantao 433000, Hubei, China
4. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510220, Guangdong, China

**Abstract:** Copper is one of the essential elements required by the human body, being widely involved in various activities. Copper homeostasis is strictly regulated in prokaryotic and eukaryotic cells to ensure sufficient copper availability for protein biosynthesis and the inhibition of oxidative stress and resulting toxicity. Copper is a limiting factor in the development and progression of cancer, including growth, angiogenesis and metastasis; Therefore, regulating tumor occurrence and development by varying the copper content in the human body has become a popular research topic in tumor treatment. The method adopted for this can be divided into those that increase the copper concentration in tumor cells by administering copper compounds or copper ionophores and those that reduce the copper concentration to physiological levels using copper complexing agents, thereby achieving antitumor therapy. In this paper, the current status and progress of copper complexes in tumor therapy are briefly reviewed, including the known mechanism of action and molecular targets, Furthermore, the related clinical trials are discussed, and the prospects for copper complexes in this field are outlined.

**Key words:** Copper complex; Antineoplaston; Copper death; Copper ion carrier

铜是人体所必需的一种微量元素, 也是生物氧化还原反应中的关键辅因子, 广泛参与人体内的生物合成过程, 同时也是细胞信号转导这一生物学功能的重要组成部分。生理情况下人体内的铜含量是保持动态平衡的, 这主要通过其与各种特定的铜伴

侣蛋白 (antioxidant 1 copper chaperone, ATOX1)、铜转运蛋白 1、铜离子转运 ATP 酶  $\alpha$  肽 (ATPase copper transporting A, ATP7A)、铜离子转运 ATP 酶  $\beta$  肽 (ATPase copper transporting B, ATP7B) 之间复杂的相互作用来严格调控。铜是多种金属酶的

收稿日期: 2023-03-28

基金课题: 广州市科技计划项目 (202102010041)

通信作者: 李军政. E-mail: jzli2002@163.com

关键成分,包括超氧化物歧化酶(Cu/Zn superoxide dismutase, SOD)、血管黏附蛋白 1、基质金属蛋白酶 9 和赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX),这些酶是肿瘤转移过程中不可或缺的组成部分<sup>[1]</sup>。最近有研究发现铜与丝裂原活化蛋白激酶 1 结合之后可促进丝裂原活化激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径的激活<sup>[2]</sup>,该途径的激活在促进肿瘤生长方面具有显著作用。因此铜在肿瘤转移的进程中是必不可少的,并可能在肿瘤生长、上皮-间充质转化、肿瘤微环境及转移前生态位的形成中发挥重要作用。一旦生物体内铜稳态被打破,就会引发一系列的问题,比如铜过量会加速肿瘤血管的生成,导致威尔逊病的发生;铜严重缺乏导致细胞色素 C 氧化酶缺乏从而引起线粒体能量产生障碍以及门克斯病等<sup>[1]</sup>,并且癌症患者的肿瘤组织和血清中的

铜水平往往比正常人更高。此外在对顺铂、卡铂耐药的肿瘤中,铜含量也明显升高,因此我们认为铜过量与癌症患者的预后不良相关。综上,人体内的铜含量或已成为肿瘤治疗的新靶点。

目前通过影响体内铜稳态来治疗肿瘤主要有两种策略(图 1):① 通过含铜化合物或铜离子载体来增加肿瘤细胞中的铜浓度,产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)催化氧化应激,抑制泛素-蛋白酶体系统来诱导肿瘤细胞凋亡。目前这些铜离子载体包括新兴的伊利司莫(elesclomol, ES)、乙二醛双氨基硫脲以及双硫仑(disulfiram, DSF)等。② 通过铜络合剂将铜浓度降低至生理水平,抑制肿瘤血管生成从而发挥抗肿瘤作用,如四硫钼酸盐(tetra-thiomolybdate, TTM)、d-青霉胺和曲恩汀等<sup>[3]</sup>。

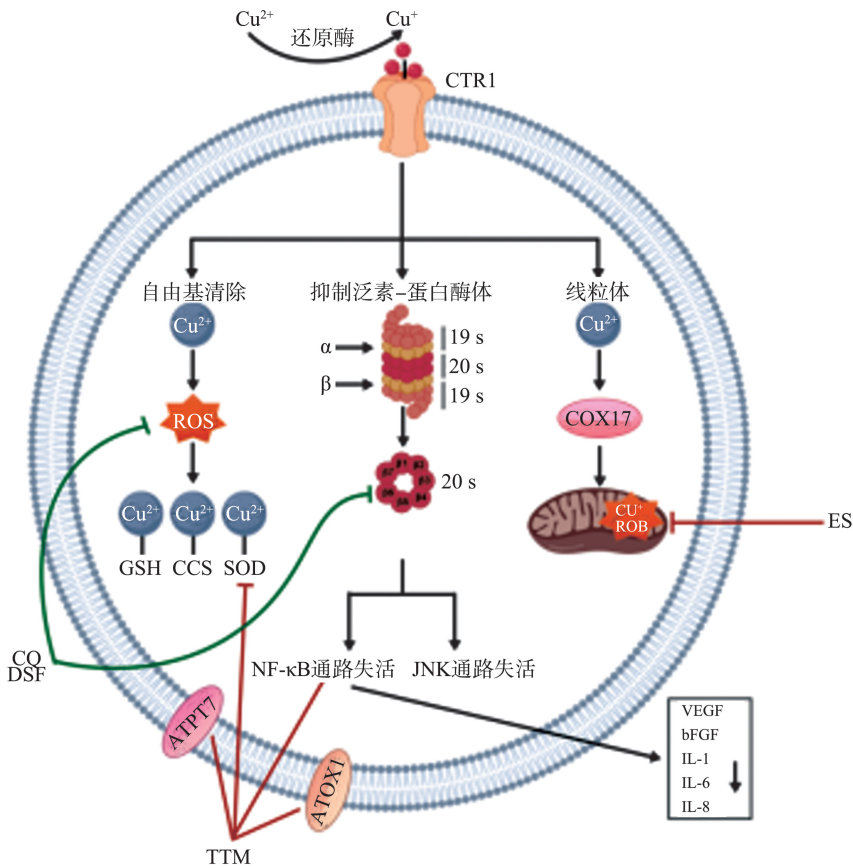


图 1 铜配合物的主要细胞内相关靶点

Figure 1 Summary of the main intracellular targets of the copper complexes

注:ATOX1:铜氧化蛋白 1;GSH:谷胱甘肽;CCS:超氧化物歧化酶 1 铜伴侣;VEGF:血管内皮生长因子;bFGF:碱性成纤维细胞生长因子;CQ:氯喹羟唑

## 1 铜离子载体

### 1.1 伊利司莫

#### 1.1.1 从调节性细胞死亡到铜死亡

ES 最初是由 Synta 制药公司作为化疗药物开

发的一种双酰胺化合物,能与 Cu<sup>2+</sup>以 1:1 的比例结合形成 ES-Cu<sup>2+</sup>复合物,穿过各种生物膜到达线粒体基质中,此时 ES 通过与电子传递链(electron transport chain, ETC)相互作用,扰乱细胞能量代谢,进而引发线粒体凋亡。Cu<sup>2+</sup>则通过铁氧还蛋白

I 还原为  $\text{Cu}^+$ , 在线粒体中诱导 ROS 产生, 催化氧化应激进而诱导细胞凋亡<sup>[4]</sup>。肿瘤细胞内 ROS 水平较之正常细胞更高, 表明肿瘤细胞死亡的发生主要依赖于细胞内铜的积累。此外缺乏 ETC 活性的人黑色素瘤细胞对 ES 靶向治疗不敏感, 这进一步为 ES 靶向线粒体提供了证据<sup>[5]</sup>, 同时表明了 ES 可通过靶向线粒体来发挥抗癌活性<sup>[6]</sup>。Tsvetkov 等<sup>[7]</sup>提出一种新的异于已知调节性细胞死亡的方式, 即是一种依赖于铜、可受调控, 并与线粒体密切相关的新型细胞死亡方式, 并将之命名为“铜死亡”。为了弄清 ES 的毒性是否依赖于已知的细胞死亡方式的诱导, Lee 等<sup>[8]</sup>敲除了凋亡效应关键因子——Bax 和 Bak, 以及使用多种抑制剂后, 均未能抑制 ES 诱导的非小细胞肺癌 A549 细胞和 NCIH2030 细胞的死亡, 而亲水性抗氧化剂谷胱甘肽可通过螯合细胞内的铜来阻断 ES- $\text{Cu}^{2+}$  的毒性, 但其他抗氧化剂 (如 N-乙酰半胱氨酸等) 均不能挽救 ES- $\text{Cu}^{2+}$  对肿瘤细胞生长的抑制, 这表明铜的生长中活性氧物不是必需的。上述研究还发现依赖于线粒体呼吸产能的 NCIH2030 肺癌细胞对 ES 的敏感性是依赖于葡萄糖酵解产能的细胞的 1 000 倍, 这再次证明了线粒体可通过多方面调节细胞死亡。此外 ES 作为铜离子载体将铜转运至线粒体后可改善 CcO 的金属化, 在铜缺乏的遗传模型中, 低剂量的 ES 可以通过模拟缺失的铜转运蛋白和伴侣蛋白的功能来增加线粒体铜含量, 并恢复 CcO 的活性和线粒体的功能。与癌细胞不同的是, ES 对正常细胞的毒性作用很小, 正常细胞的内源性抗氧化能力能够克服其潜在的毒性。因此 ES 有望用于治疗除癌症以外的门克斯病和遗传性铜缺乏症等相关疾病<sup>[9]</sup>。

### 1.1.2 抗肿瘤治疗中的应用

由于 ES 在体外对多种类型的癌细胞具有选择毒性, 可与紫杉醇联合应用于晚期实体瘤<sup>[6]</sup>。临床前研究发现尽管 ES 的内在抗肿瘤活性较低, 却能明显增强紫杉醇的抗肿瘤作用<sup>[10]</sup>, 因此已有临床试验评估 ES 联合紫杉醇在抗癌治疗中的协同效应。来自随机 II 期和 III 期试验的综合数据显示 ES 只延长乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 水平较低的转移性黑色素瘤患者的无进展生存期<sup>[11]</sup>, 这可能与 ES 以代谢活跃的癌细胞线粒体为靶标有关。由于 ES 在非低氧细胞中最活跃, 血清高 LDH 水平反映了肿瘤细胞处于缺氧状态, 因此 LDH 水平可作为评估 ES 效能的标志。紫杉醇强烈的不良反应限制了 ES 和紫杉醇联合输注的给药频率。根据 ES 与  $\text{Cu}^{2+}$  结合发挥药理作用的机制, ES 与铜络合可

能会提高其疗效<sup>[12]</sup>。由于 ES/紫杉醇的总体生存率明显低于单独使用紫杉醇, 最后这项 III 期试验未能完成, 未能用于复发或难治性急性髓系白血病<sup>[13]</sup>、卵巢癌<sup>[14]</sup> 和皮肤黑色素瘤<sup>[11]</sup>。Li 等<sup>[15]</sup>研究发现 ES 通过促进铜进入线粒体和诱导 ROS, 激活 LATS1-YAP 轴, 从而实现了对鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 G(Q) 亚单位  $\alpha$  和鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 G(11) 亚单位  $\alpha$  突变的葡萄膜黑色素瘤 (uveal melanoma, UM) 细胞的特异性杀伤, 这一发现可能为恶性 GNAQ/11 突变的 UM 提供了一种新的治疗途径。Mariachiara 等<sup>[16]</sup>的研究发现 ES 可诱导胶质母细胞瘤干细胞和胶质母细胞瘤干细胞来源的内皮细胞中线粒体 ROS 水平的升高, 最终导致非凋亡性的铜依赖细胞死亡, 并在小鼠脑移植实验模型中证实 ES 联合烷化剂替莫唑胺可增强细胞毒性。上述研究表明靶向氧化应激可能是治疗胶质母细胞瘤的一种新兴策略, 这为解决胶质母细胞瘤复发耐药等一系列难题开拓了新的方向。此外, 有研究表明<sup>[17]</sup> ES 对 KRAS 突变类型的癌细胞均有杀伤作用, 如肺腺癌等。与以往 ES 通过 ROS 升高诱导细胞死亡理论不同的是, ES 通过抑制 Bcl2a 和 Bcl-x1 蛋白的表达以及触发 caspase 依赖的细胞凋亡途径, 从而在 KRAS 基因突变的人肺癌治疗中发挥抗肿瘤活性。

## 1.2 双硫仑

### 1.2.1 从戒酒药到抗癌药

DSF 是乙醛脱氢酶 (aldehyde dehydrogenase, ALDH) 抑制剂, 可通过明显升高人体中的血乙醛浓度, 产生恶心、头痛、呕吐、低血压和心悸等双硫仑样反应来帮助嗜酒者戒酒, 因而被 FDA 批准用于乙醇中毒或戒酒治疗。随着“老药新用”的概念被提出, 具有成本低、可用性和安全性高、抗癌活性强等优点的 DSF 作为抗癌剂重新进入人们的视野。大量细胞和动物实验研究表明<sup>[18]</sup>, DSF 用于放疗的辅助治疗中所表现的抗肿瘤活性——抑制蛋白酶体活性、诱导 ROS 催化氧化应激、抑制 ALDH 活性、抑制血管生成、抑制核因子- $\kappa\text{B}$  (nuclear factor Kappa-B, NF- $\kappa\text{B}$ ) 通路的表达、诱导内质网应激和自噬是具有铜离子依赖性的。肿瘤干细胞与肿瘤的增殖、转移、复发、化疗耐药密切相关, 而 ALDH 作为肿瘤干细胞的生物标志物, 能被 DSF 不可逆地抑制。Wang 等<sup>[19]</sup>发现 DSF/ $\text{Cu}^{2+}$  可抑制细胞内 ALDH 的活性, 逆转口腔上皮癌长春新碱耐药和肺癌紫杉醇耐药。DSF/ $\text{Cu}^{2+}$  还可通过降低 ALDH 的表达, 抑制肿瘤细胞干性、升高 ROS 水平、诱导乳腺癌来源的肿瘤干细胞凋亡<sup>[20]</sup>。由此表明 DSF 与  $\text{Cu}^{2+}$  的结合

不仅通过多种机制诱导细胞死亡,还具有靶向肿瘤干细胞的能力,能从多方面影响肿瘤细胞的生物学功能,为预防肿瘤的复发和转移提供了新途径。

### 1.2.2 逆转肿瘤耐药

DSF 的抗肿瘤作用在肿瘤临床前研究<sup>[21]</sup>中已有报道,比如非小细胞肺癌、肝癌、乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌、胶质母细胞瘤、鼻咽癌和黑色素瘤等。近年来有研究发现 DSF 在逆转肿瘤耐药性方面起着关键作用,并成为增强化疗药物敏感性的新选择<sup>[19]</sup>,尽管如此,肿瘤耐药性仍然是限制癌症患者治愈的主要因素。如前所述,DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 可通过抑制 ALDH 的活性逆转肿瘤耐药,这在卵巢癌细胞实验中已被证实<sup>[22]</sup>。ATP 结合盒式转运蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABC)是分布在细胞表面的膜蛋白,该蛋白上有一个外排泵 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp),负责编码转运蛋白和通道蛋白,起着维持细胞内稳态的作用。P-gp 的过表达是多重耐药的重要因素,因此又被称为多药耐药蛋白 1。Shukla 等<sup>[23]</sup>发现 DSF 可通过抑制细胞内 ATP 水解酶逆转 P-gp 介导的荧光药物底物的外流,进而不可逆地抑制<sup>[ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]</sup> 8-叠氮 ATP 与 P-gp 的结合。另一组数据表明 DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 可降低人肺癌 A549 细胞和人口腔上皮癌 KB 细胞 P-gp 表达从而克服 ABC 引起的耐药性<sup>[19]</sup>。NF- $\kappa$ B 是主要的耐药相关抗细胞凋亡因子之一,可诱导大量的抗凋亡相关基因表达,使细胞产生耐药。当 DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 与吉西他滨联合使用时,通过抑制吉西他滨诱导的 NF- $\kappa$ B 的核转位和抑制 I $\kappa$ B 的降解,可逆转人结肠癌细胞株 NCI-H630 和人乳腺癌细胞株 MCF-7 的耐药性<sup>[24]</sup>。进一步研究表明,DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 通过抑制 NF- $\kappa$ B 和转化生长因子- $\beta$  通路,从而抑制肝细胞癌转移和上皮间充质转化<sup>[25]</sup>。作为蛋白酶体抑制剂,低剂量的 DSF 与铜联合使用可通过抑制蛋白酶体活性来增强胶质母细胞瘤对替莫唑胺治疗的敏感性。MAPK 通路是细胞外信号向细胞内反应转换的重要桥梁,参与肿瘤的发生、发展和耐药。DSF 能通过激活 ROS/MAPK 通路促进鼻咽癌细胞凋亡,并增强顺铂的细胞毒性作用,从而逆转鼻咽癌细胞对顺铂的耐药性<sup>[21]</sup>。研究发现肿瘤的发生可能是免疫逃逸的结果,因此免疫治疗成为目前的研究热点。DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 可通过抑制 PARP1 的活性,促进 GSK3 $\beta$  磷酸化,导致 PD-L1 表达上调。因此 DSF/ $\text{Cu}^{2+}$ 和抗 PD-1 抗体联合治疗肝细胞癌显示出比单一治疗更好的临床疗效<sup>[26]</sup>。由此表明 DSF 可以抑制癌症中的几个耐药相关靶点,并且 DSF 与铜联合使用逆转肿瘤耐药

性已成为一种新的抗癌治疗策略。

## 2 铜络合物

### 2.1 四硫代钼酸盐

#### 2.1.1 从络合铜到抑制血管生成

TTM 是一种高度特定的铜络合剂,最初被用来治疗肝脏和全身铜负荷超载所导致的威尔逊病<sup>[27]</sup>。TTM 可通过与铜和蛋白质形成高亲和力的三方络合物来减少人类和动物体内的生物有效铜,也可与铜及其伴侣蛋白 ATOX1 形成稳定的络合物,阻止铜向细胞内转运,从而减少细胞内的生物有效铜<sup>[28]</sup>。McAuslan 等<sup>[29]</sup>研究发现铜是促进血管生成的关键元素,铜沉积物与肿瘤血管的生成密切相关。一个直径超过 2 mm 的肿瘤需要通过自身的血液供应,以获得足够的氧气和营养物质来维持生长,新生血管的生成是肿瘤增殖和转移的初始过程,因此抑制肿瘤血管生成可作为肿瘤治疗的新策略。铜可直接刺激内皮细胞的迁移和增殖以及纤维连接蛋白的合成,从而促进血管生成。铜耗竭将关闭血管生成的开关,阻断内皮细胞的增殖过程,并使细胞周期停止在 G0 期<sup>[30]</sup>。在一项乳腺癌小鼠模型研究中发现铜络合剂 TTM 可通过抑制 NF- $\kappa$ B 转录因子的表达,导致血管内皮细胞生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、IL-1、IL-6 和 IL-8 的表达减少,干扰血管生成,从而抑制乳腺癌的生长<sup>[27]</sup>。转录因子 NF- $\kappa$ B 可参与调控一些涉及应激反应、细胞存活、细胞凋亡、炎症和放射抵抗等基因的激活<sup>[13]</sup>。有研究表明 TTM 通过抑制 NF- $\kappa$ B 的产生提高卵巢癌细胞(SKOV-3 和 A2780)对阿霉素、芬维甲素、5-氟尿嘧啶和丝裂霉素 C 等化疗药物的敏感性<sup>[31]</sup>。此外,TTM 可通过抑制 SOD1 的活性来阻止肿瘤血管的生成<sup>[32]</sup>。SOD1 是一种催化超氧自由基转化为过氧化氢的铜酶,其活性降低可导致血管收缩增强和内皮细胞功能障碍,从而抑制血管生成<sup>[30]</sup>。前面已提到 TTM 可与铜伴侣蛋白 ATOX1 形成稳定的钼-铜中心簇的三聚体蛋白质络合物,该簇合物可抑制 SOD 和 LOX 的活性。SOD 及 LOX 是参与血管生成和肿瘤转移的关键因素,一旦失活肿瘤血管的生成甚至肿瘤的转移都明显受到抑制<sup>[6]</sup>。铜转运蛋白 ATP7A 是保持细胞铜稳态的关键角色,主要负责向那些促进肿瘤血管生成的铜酶供应铜,TTM 可减少 ATP7A 的表达,从而抑制肿瘤血管生成<sup>[1]</sup>。最近有研究发现 TTM 激活了血管内皮细胞的自噬途径,其通过 AMPK/mTOR/ULK1 依赖的自噬途径激活核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor ery-

throid-2 related factor 2, Nrf2) 信号, Nrf2 是一种抗氧化反应调节因子, 在转录水平上调节多种抗氧化蛋白, 有助于维持细胞氧化还原动态平衡, 避免氧化应激和细胞损伤<sup>[33]</sup>。TTM 是一种新型的 Nrf2 激活剂<sup>[34]</sup>, 可通过上述途径激活 Nrf2 信号, 诱导 Nrf2 核转位并激活下游抗氧化基因的转录, 避免氧化应激导致的细胞死亡, 为治疗氧化损伤相关的血管疾病提供了新的线索。以上表明抗癌药物的发展已经从传统的细胞毒剂转向合理设计作用于特定细胞靶点的选择性药物, 比如靶向肿瘤血管生成, 而且 TTM 作为铜络合物证明铜耗竭已成为肿瘤治疗的新方向。

### 2.1.2 抗肿瘤治疗中的应用

TTM 的抗肿瘤活性已在多种肿瘤研究中得到证实<sup>[27,31,35]</sup>。例如 TTM 可导致铜依赖的线粒体复合体 IV 失活从而减少氧化磷酸化并增加糖酵解, 抑制三阴性乳腺癌 SOX2/OCT4<sup>+</sup> 细胞的侵袭和转移<sup>[36]</sup>, 而糖酵解和氧化磷酸化在产生癌细胞快速增殖所需要的生物合成中间件中发挥着重要作用。胶原蛋白在肿瘤的进展中是把双刃剑, 细胞外基质内的胶原蛋白降解和沉积都有可能产生肿瘤转移的生物力学信号, 从而促进肿瘤的增殖、侵袭和转移<sup>[19]</sup>。TTM 可通过铜耗竭减少三阴性乳腺癌细胞外基质内的胶原交联度, 促进胶原蛋白的降解, 使得癌细胞外基质转移前的生态位“正常化”, 从而达到增加免疫激活和防止乳腺癌细胞转移的目的<sup>[37]</sup>。TTM 还可通过耗竭铜来抑制 LOX 的活性, 下调成骨细胞和骨细胞中核因子- $\kappa$ B 受体激活因子配体的表达, 从而抑制破骨细胞的分化。LOX 是一种铜依赖的酶, 它的激活可促进破骨细胞的形成分化。Morisawa 等<sup>[38]</sup>的研究证明 TTM 对头颈部鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) 引起的骨吸收具有抗骨破坏作用; 在 HNSCC 破坏的小鼠模型中, TTM 联合西妥昔单抗治疗比单独使用显著抑制了肿瘤的生长和骨吸收。在之后的一年里, 他们再次发现 TTM 可通过耗竭铜抑制 ATP7B 的表达, 减少癌细胞内顺铂的外排, 从而增强 HSC-3HNSCC 细胞对顺铂的敏感性<sup>[39]</sup>。TTM 在卵巢癌中具有化疗增敏作用, 当与化疗药物如阿霉素、丝裂霉素 C、芬维替尼和 5-氟尿嘧啶联合使用时, 可通过增加 ROS 的积累和促凋亡信号来增加细胞凋亡<sup>[31]</sup>。因此表明 TTM 作为辅助手段与抗癌药物的联合使用显示出良好的前景, 可提高许多抗癌药的性能或与其产生协同效应。铜伴侣蛋白 ATOX1 在顺铂的细胞内转运过程中也发挥着重要作用<sup>[41]</sup>, 由

此可以推测出无论是 LOX 活性下调还是抑制 ATP7A/ATP7B 表达, 这都与 TTM 影响着癌细胞的铜代谢有关。因此 TTM 靶向铜代谢为肿瘤治疗提供了新的方向。铜耗竭作为一种新的治疗策略, 可针对癌症演变和转移扩散中的多个关键过程, 比如肿瘤血管生成, 这可能有效降低高危人群的复发风险。

## 2.2 氯碘羟喹

### 2.2.1 从阿尔兹海默病到癌症

Hsiao 等<sup>[40]</sup>在阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 小鼠模型中发现氯碘羟喹 (clioquinol, CQ) 在抑制  $\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ) 沉积的作用。后 Cherny 等<sup>[41]</sup>测试了 CQ 对 AD 患者死后脑组织中 A $\beta$  的溶解能力, 发现在  $>0.4 \mu\text{M}$  CQ 的条件下, 释放到可溶性相中的 A $\beta$  以浓度依赖的方式呈正相关增长, 并证明了 A $\beta$  在体外对  $\text{Cu}^{2+}$  具有高亲和力; 并且, 用 CQ 持续提取组织可导致几乎所有不溶性淀粉样蛋白溶解。基于金属离子螯合剂能通过降低肿瘤组织内的金属离子浓度而产生抗癌作用, CQ 是否可作为癌症的潜在分子靶点引起了研究者的广泛关注。Du 等<sup>[42]</sup>研究发现 CQ 对巨噬细胞介导的体外 HeLa 癌细胞生长有着抑制作用, 进一步发现 CQ 可以通过巨噬细胞中 TNF $\alpha$  的金属依赖性释放来诱导癌细胞毒性, 从而诱导肿瘤细胞死亡。此外, Perez 等<sup>[43]</sup>使用 CQ 处理后的 F-cAMP 负载细胞会触发 cAMP 依赖性内在凋亡途径, 继而通过 ABC 转运打败靶向癌症中的 cAMP 外排, 从而发挥抗肿瘤活性。目前, 靶向自噬途径是癌症治疗中较前沿方向<sup>[44]</sup>, CQ 与 Cu 络合后, 能靶向抑制蛋白酶体活性, 并导致癌细胞中凋亡细胞途径的激活。

### 2.2.2 抗肿瘤治疗中的应用

已有体外和临床前模型证明 CQ 可通过抑制蛋白酶体在前列腺癌<sup>[45]</sup>、骨髓瘤<sup>[46]</sup>等多种类型癌症中诱导细胞凋亡, 从而发挥抗肿瘤活性, 且这一过程完全依赖于铜。有研究发现, CQ 络合铜和锌会使 SOD1 失活, 而 SOD1 是癌症治疗的靶点之一。随后有研究发现<sup>[47]</sup>, CQ 是作为一种离子载体发挥抗癌作用, 其抗癌特性取决于其金属运输到癌细胞中的能力。Chen 等<sup>[45]</sup>研究表明 CQ 是一种铜消耗剂, 以铜依赖的方式靶向肿瘤蛋白酶体, 可通过特异性抑制蛋白酶体的 20S 蛋白来抑制前列腺癌中的蛋白酶体活性; 在雄激素依赖型 (LNCaP) 和雄激素依赖型 (C4-2B) 人前列腺癌细胞系中, CQ 与铜结合后抑制蛋白酶体、雄激素受体 (androgen receptor,

AR)和凋亡诱导活性。当用于含有与癌症患者类似的细胞铜水平的前列腺癌症细胞时,CQ 单用会抑制蛋白酶体活性和 AR 蛋白表达并诱导凋亡,且可选择性靶向肿瘤细胞,而不会损伤正常细胞。Ding 等<sup>[48]</sup>发现在体内淋巴瘤异种移植小鼠模型中,低微摩尔范围内的 CQ 可通过激活半胱天冬酶活性的凋亡途径诱导淋巴瘤细胞死亡。一个随机 I 期试验报告了 CQ 在难治性血液系统恶性肿瘤患者中的治疗效果,以评估其安全性并确定其在该患者群体中的生物活性。他们在每次给药前后均测量患者蛋白酶体的酶活性以及氯喹醇的血浆和细胞内水平。最后结果表明了在难治性血液系统恶性肿瘤患者中的可耐受剂量下可以观察到蛋白酶体的最小抑制,这可能是由于药物的细胞内水平低<sup>[49]</sup>。由此表明 CQ 可利用癌症细胞和组织中铜水平的升高及蛋白酶体活性作为癌症选择性靶点的依据,铜含量水平升高、生存更依赖蛋白酶体活性的癌症细胞和组织对 CQ 的治疗非常敏感。

### 3 结论与展望

铜对转移性癌症的进展至关重要,可能在肿瘤生长、上皮-间充质转化以及肿瘤微环境和转移前生态位的形成中发挥作用,并且人们对其开发用于癌症治疗的铜配合物产生了极大的兴趣。目前针对铜稳态治疗的抗肿瘤机制主要有两种,一方面通过辅助用药增加各种化疗药物的敏感性,另一方面通过自身的抗肿瘤活性在肿瘤治疗中发挥着重要作用。铜稳态在癌症发生发展中的作用是多方面的,包括肿瘤的发生、发展、血管生成、肿瘤微环境的重建和转移。铜离子载体 ES 所诱导的“铜死亡”的发现是继铁死亡之后又一不同于其他已知的调节性细胞死亡方式,这挑战了传统认为的氧化应激是金属诱导细胞毒性的基本分子机制这一概念。

根据目前研究结果,铜配合物疗法已被证明具有抗肿瘤作用,其主要是通过干扰血管生成和抑制肿瘤增殖转移,但仍需要进一步的随机临床试验来证实临床前研究中观察到的这些作用。但其前景光明,未来铜配合物有望成为抗癌治疗的强大工具。

### 参考文献:

[1] Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation[J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(3): 176-185. doi:10.1038/nchembio.72

[2] Turski ML, Brady DC, Kim HJ, et al. A novel role for copper in Ras/mitogen-activated protein kinase signaling [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(7): 1284-1295. doi:10.

1128/MCB.05722-11

[3] Denoyer D, Clatworthy SAS, Cater MA. Copper complexes in cancer therapy[J]. *Met Ions Life Sci*, 2018, 18: /books/9783110470734/9783110470734-/books/9783110470734/9783110470022/9783110470734-022.xml. doi:10.1515/9783110470734-022

[4] Tsvetkov P, Detappe A, Cai K, et al. Mitochondrial metabolism promotes adaptation to proteotoxic stress[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(7): 681-689. doi: 10.1038/s41589-019-0291-9

[5] Modica-Napolitano JS, Bharath LP, Hanlon AJ, et al. The anticancer agent elesclomol has direct effects on mitochondrial bioenergetic function in isolated mammalian mitochondria[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(8): 298. doi: 10.3390/biom9080298

[6] Nagai M, Vo NH, Shin Ogawa L, et al. The oncology drug elesclomol selectively transports copper to the mitochondria to induce oxidative stress in cancer cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(10): 2142-2150. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.017

[7] Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins[J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-1261. doi: 10.1126/science.abf0529

[8] Lee JH, Cho YS, Jung KH, et al. Genipin enhances the antitumor effect of elesclomol in A549 lung cancer cells by blocking uncoupling protein-2 and stimulating reactive oxygen species production [J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(6): 374. doi: 10.3892/ol.2020.12237

[9] Soma S, Latimer AJ, Chun H, et al. Elesclomol restores mitochondrial function in genetic models of copper deficiency[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(32): 8161-8166. doi:10.1073/pnas.1806296115

[10] Chen SJ, Sun LJ, Koya K, et al. Syntheses and antitumor activities of N'1, N'3-dialkyl-N'1, N'3-di-(alkylcarbothioyl) malonohydrazide: the discovery of elesclomol[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(18): 5070-5076. doi:10.1016/j.bmcl.2013.07.032

[11] O'Day SJ, Eggermont AMM, Chiarion-Sileni V, et al. Final results of phase III SYMMETRY study: randomized, double-blind trial of elesclomol plus paclitaxel versus paclitaxel alone as treatment for chemotherapy-naive patients with advanced melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(9): 1211-1218. doi: 10.1200/JCO.2012.44.5585

[12] O'Day S, Gonzalez R, Lawson D, et al. Phase II, randomized, controlled, double-blinded trial of weekly elesclomol plus paclitaxel versus paclitaxel alone for stage IV metastatic melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(32): 5452-5458. doi:10.1200/JCO.2008.17.1579

- [13] Hedley D, Shamas-Din A, Chow S, et al. A phase I study of elesclomol sodium in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2016, 57(10): 2437-2440. doi:10.3109/10428194.2016.1138293
- [14] Monk BJ, Kauderer JT, Moxley KM, et al. A phase II evaluation of elesclomol sodium and weekly paclitaxel in the treatment of recurrent or persistent platinum-resistant ovarian, fallopian tube or primary peritoneal cancer; an NRG oncology/gynecologic oncology group study [J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 151(3): 422-427. doi:10.1016/j.ygyno.2018.10.001
- [15] Li YY, Yang J, Zhang QQ, et al. Copper ionophore elesclomol selectively targets GNAQ/11-mutant uveal melanoma [J]. *Oncogene*, 2022, 41(27): 3539-3553. doi:10.1038/s41388-022-02364-0
- [16] Buccarelli M, D'Alessandris QG, Matarrese P, et al. Elesclomol-induced increase of mitochondrial reactive oxygen species impairs glioblastoma stem-like cell survival and tumor growth [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 228. doi:10.1186/s13046-021-02031-4
- [17] Albayrak G, Korkmaz FD, Tozcu D, et al. The outcomes of an impaired powerhouse in KRAS mutant lung adenocarcinoma cells by Elesclomol [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 10564-10571. doi:10.1002/jcb.28342
- [18] Li H, Wang J, Wu C, et al. The combination of disulfiram and copper for cancer treatment [J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(6): 1099-1108. doi: 10.1016/j.drudis.2020.04.003
- [19] Wang NN, Wang LH, Li Y, et al. Targeting ALDH2 with disulfiram/copper reverses the resistance of cancer cells to microtubule inhibitors [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 362(1): 72-82. doi:10.1016/j.yexcr.2017.11.004
- [20] Yang Z, Guo F, Albers AE, et al. Disulfiram modulates ROS accumulation and overcomes synergistically cisplatin resistance in breast cancer cell lines [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113: 108727. doi:10.1016/j.biopha.2019.108727
- [21] Li Y, Chen F, Chen J, et al. Disulfiram/Copper induces antitumor activity against both nasopharyngeal cancer cells and cancer-associated fibroblasts through ROS/MAPK and ferroptosis pathways [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1): 138. doi: 10.3390/cancers12010138
- [22] Guo F, Yang Z, Kulbe H, et al. Inhibitory effect on ovarian cancer ALDH+ stem-like cells by Disulfiram and Copper treatment through ALDH and ROS modulation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109371. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109371
- [23] Shukla S, Sauna ZE, Prasad R, et al. Disulfiram is a potent modulator of multidrug transporter Cdr1p of *Candida albicans* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 322(2): 520-525. doi:10.1016/j.bbrc.2004.07.151
- [24] Cong J, Wang YY, Zhang X, et al. A novel chemoradiation targeting stem and nonstem pancreatic cancer cells by repurposing disulfiram [J]. *Cancer Lett*, 2017, 409: 9-19. doi:10.1016/j.canlet.2017.08.028
- [25] Li Y, Wang LH, Zhang HT, et al. Disulfiram combined with copper inhibits metastasis and epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma through the NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$  pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(1): 439-451. doi:10.1111/jcmm.13334
- [26] Zhou BH, Guo L, Zhang B, et al. Disulfiram combined with copper induces immunosuppression via PD-L1 stabilization in hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(11): 2442-2455
- [27] Brewer GJ. The promise of copper lowering therapy with tetrathiomolybdate in the cure of cancer and in the treatment of inflammatory disease [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2014, 28(4): 372-378. doi:10.1016/j.jtemb.2014.07.015
- [28] Tian Y, Fang TT, Yuan SM, et al. Tetrathiomolybdate inhibits the reaction of cisplatin with human copper chaperone Atox1 [J]. *Metallomics*, 2018, 10(5): 745-750. doi:10.1039/c8mt00084k
- [29] McAuslan BR, Reilly W. Endothelial cell phagocytosis in response to specific metal ions [J]. *Exp Cell Res*, 1980, 130(1): 147-157. doi: 10.1016/0014-4827(80)90051-8
- [30] Jiang YC, Huo ZY, Qi XL, et al. Copper-induced tumor cell death mechanisms and antitumor therapeutic applications of copper complexes [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2022, 17(5): 303-324. doi: 10.2217/nnm-2021-0374
- [31] Kim KK, Lange TS, Singh RK, et al. Tetrathiomolybdate sensitizes ovarian cancer cells to anticancer drugs doxorubicin, fenretinide, 5-fluorouracil and mitomycin C [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 147. doi:10.1186/1471-2407-12-147
- [32] Rieber M. Cancer pro-oxidant therapy through copper redox cycling: Repurposing disulfiram and tetrathiomolybdate [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(35): 4461-4466. doi:10.2174/1381612826666200628022113
- [33] Zhang ML, Qiu HM, Mao LJ, et al. Ammonium tetrathiomolybdate triggers autophagy-dependent? NRF2? activation in vascular endothelial cells [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(8): 733. doi: 10.1038/s41419-022-05183-z
- [34] Yang T, Zhang F. Targeting transcription factor Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) for the inter-

- vention of vascular cognitive impairment and dementia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1): 97-116. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314804
- [35] Glasauer A, Sena LA, Diebold LP, et al. Targeting SOD1 reduces experimental non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(1): 117-128. doi: 10.1172/JCI71714
- [36] Ramchandani D, Berisa M, Tavarez DA, et al. Copper depletion modulates mitochondrial oxidative phosphorylation to impair triple negative breast cancer metastasis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 7311. doi: 10.1038/s41467-021-27559-z
- [37] Liu YL, Bager CL, Willumsen N, et al. Tetrathiomolybdate (TM)-associated copper depletion influences collagen remodeling and immune response in the pre-metastatic niche of breast cancer [J]. *NPJ Breast Cancer*, 2021, 7(1): 108. doi: 10.1038/s41523-021-00313-w
- [38] Morisawa A, Okui T, Shimo T, et al. Ammonium tetrathiomolybdate enhances the antitumor effects of cetuximab via the suppression of osteoclastogenesis in head and neck squamous carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(3): 989-999. doi: 10.3892/ijo.2018.4242
- [39] Ryumon S, Okui T, Kunisada Y, et al. Ammonium tetrathiomolybdate enhances the antitumor effect of cisplatin via the suppression of ATPase copper transporting beta in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(6): 2611-2621. doi: 10.3892/or.2019.7367
- [40] Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, et al. Correlative memory deficits,  $\alpha\beta$  elevation, and amyloid plaques in transgenic mice [J]. *Science*, 1996, 274(5284): 99-103. doi: 10.1126/science.274.5284.99
- [41] Cherny RA, Atwood CS, Xilinas ME, et al. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits  $\beta$ -amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice [J]. *Neuron*, 2001, 30(3): 665-676. doi: 10.1016/S0896-6273(01)00317-8
- [42] Du T, Filiz G, Caragounis A, et al. Clioquinol promotes cancer cell toxicity through tumor necrosis factor alpha release from macrophages [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 324(1): 360-367. doi: 10.1124/jpet.107.130377
- [43] Perez D, Simons PC, Smagley Y, et al. A High-Throughput Flow Cytometry Assay for Identification of Inhibitors of 3', 5'-Cyclic Adenosine Monophosphate Efflux [M]// *High Throughput Screening*. New York: Humana Press, 2016: 227-244. doi: 10.1007/978-1-4939-3673-1\_15
- [44] Levy JMM, Towers CG, Thorburn A. Targeting autophagy in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(9): 528-542. doi: 10.1038/nrc.2017.53
- [45] Chen D, Cui QC, Yang HJ, et al. Clioquinol, a therapeutic agent for Alzheimer's disease, has proteasome-inhibitory, androgen receptor-suppressing, apoptosis-inducing, and antitumor activities in human prostate cancer cells and xenografts [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1636-1644. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3546
- [46] Mao X, Li X, Sprangers R, et al. Clioquinol inhibits the proteasome and displays preclinical activity in leukemia and myeloma [J]. *Leukemia*, 2009, 23(3): 585-590. doi: 10.1038/leu.2008.232
- [47] Arnesano F, Scintilla S, Calò V, et al. Copper-triggered aggregation of ubiquitin [J]. *PLoS One*, 2009, 4(9): e7052. doi: 10.1371/journal.pone.0007052
- [48] Ding WQ, Liu BL, Vaught JL, et al. Anticancer activity of the antibiotic clioquinol [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3389-3395. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3577
- [49] Schimmer AD, Jitkova Y, Gronda M, et al. A phase I study of the metal ionophore clioquinol in patients with advanced hematologic malignancies [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2012, 12(5): 330-336. doi: 10.1016/j.clml.2012.05.005

(编辑:曾婕)