

本文引用: 王甜, 吴鸿飞, 戴敏, 等. 铜过载介导动脉粥样硬化的作用及机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(8): 719-727. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.08.011.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-08-0719-09

· 文献综述 ·

铜过载介导动脉粥样硬化的作用及机制研究进展

王甜¹, 吴鸿飞^{1,2}, 戴敏^{1,2}, 刘雅蓉^{1,2}

1. 安徽中医药大学药学院, 2. 中药研究与开发安徽省重点实验室, 安徽省合肥市 230011

[摘要] 动脉粥样硬化(As)是一种与血管壁内膜脂质沉积相关的慢性炎症性疾病。铜被认为是机体一种重要的微量元素,与As的发生发展密切相关。细胞内铜离子积累过量能够诱导细胞死亡,这种细胞死亡方式被命名为“铜死亡”。正常情况下,机体的铜代谢可将铜水平控制在稳定的范围内;而当疾病发生时,铜稳态被破坏,细胞内铜过载产生细胞毒性,诱发氧化应激、炎症、细胞焦亡和铜死亡,促进了As的发生发展。本文总结了机体铜水平与As的关系,并从机体的铜调节入手探讨铜死亡的发生机制,以及铜过载促进As的病理机制,并对相关药物干预进行综述,以期As提供新的治疗靶点。

[关键词] 动脉粥样硬化; 铜稳态; 铜过载; 铜死亡

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research progress on the role and mechanism of copper overload mediating atherosclerosis

WANG Tian¹, WU Hongfei^{1,2}, DAI Min^{1,2}, LIU Yarong^{1,2}

1. School of Pharmaceutical Sciences, Anhui University of Chinese Medicine, 2. Key Laboratory of Chinese Medicine Research and Development, Hefei, Anhui 230011, China

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) is a chronic inflammatory disease associated with lipid deposition. Copper is considered to be an important trace element and is closely related to the occurrence and development of As. Excessive accumulation of copper ions in cells can induce cell death, a new type of cell death named “cuproptosis”. Under normal conditions, the body’s copper metabolism can control the copper level in a stable range. When the disease occurs, copper homeostasis is destroyed, intracellular copper overload produces cytotoxicity, induces oxidative stress, inflammation, cell pyroptosis and cuproptosis, and promotes the occurrence and development of As. This article summarizes the relationship between copper levels and As, and discusses the mechanism of cuproptosis and the pathological mechanism of copper overload promoting As from the perspective of the body’s copper regulation, and reviews the relevant drug intervention, expecting to provide a new therapeutic target for As.

[KEY WORDS] atherosclerosis; copper homeostasis; copper overload; cuproptosis

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是多细胞、多因子参与的慢性炎症性疾病,其主要病变的特征在于动脉管壁的脂质沉积,同时伴有血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖、纤维基质增加以及斑块形成,是多种心血管疾病的病理学基础^[1]。研究显示,铜过载在As的发生发展中发挥

重要作用:高血清铜水平与As疾病的风险增加有关^[2-3];在人类As斑块中,观察到铜水平升高^[4];另外,在ApoE^{-/-}小鼠中,使用铜螯合剂四硫代钼酸盐(tetrathiomolybdate, TTM)可以明显抑制小鼠As的发展^[5]。近期, Tsvetkov等^[6]提出,当细胞内铜过载,过量的铜离子与线粒体蛋白结合,导致细胞死

[收稿日期] 2023-06-25

[修回日期] 2023-09-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82104556);安徽省自然科学基金项目(2108085QH375);安徽中医药大学国家级项目培育基金项目(2021py01)

[作者简介] 王甜,硕士研究生, E-mail:3418584562@qq.com。通信作者刘雅蓉,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事中药心血管药理学研究, E-mail:lyr1209@ahtcm.edu.cn。

亡。这是一种具有铜依赖性的、不同于细胞凋亡、焦亡、坏死性凋亡和铁死亡等所有其他已知的调节性细胞死亡 (regulated cell death, RCD) 的新型细胞死亡方式, 这种新型的细胞死亡方式被命名为铜死亡 (cuproptosis)。铜死亡是通过铜靶向与三羧酸 (tricarboxylic acid, TCA) 循环中脂酰化蛋白结合, 随即诱导脂酰化的蛋白质聚集和铁硫 (Fe-S) 簇蛋白的减少, 造成蛋白毒性应激, 从而导致细胞死亡。目前, 铜死亡参与 As 的机制尚不清楚。本文将通过讨论机体铜水平与 As 的关系以及机体如何维持铜稳态, 进一步探讨铜过载诱发的铜死亡及其参与 As 的作用机制, 并对相关药物干预进行综述, 为研究铜死亡在 As 中的作用及机制提供文献依据, 以期 As 提供新的治疗靶点。

1 铜稳态与心血管系统

1.1 心血管系统中铜离子的来源

作为机体中的一种基本元素, 许多研究表明, 铜是多种关键代谢酶的辅助因子, 而这些酶广泛的参与各种生理过程^[6-7]。但当机体的铜离子积累过量时, 就会导致铜稳态失衡, 诱导心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 的发生^[8]。

人体全身含铜量约为 100 mg^[9], 且体内所需的

铜大多是通过饮食摄取, 成人每天膳食铜的摄入量为 1.0 ~ 1.6 mg^[10]。膳食铜作为外源性铜是机体内铜的主要来源, 它们都以 Cu^{2+} 的形式存在, 无法被细胞直接利用^[11]。铜的吸收主要发生在十二指肠和小肠。 Cu^{2+} 进入肠上皮细胞的吸收主要由铜转运蛋白 1 (copper transporter 1, CTR1) 介导, STEAP 还原酶家族和十二指肠细胞色素 b (duodenal cytochrome b, Dcyt b) 促进了这一过程, 并将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{+} 。 CTR1 运输 Cu^{+} 在胃肠道被吸收后, Cu^{+} 被分泌到血液中^[12-14], 通过与可溶性伴侣 (如铜蓝蛋白、白蛋白、反式铜蛋白和其他血浆蛋白) 结合而被输送到器官和组织, 包括心脏和主动脉等。肝脏是铜稳态的关键调节器官, 肝细胞是铜的主要仓库^[15]。铜到达肝脏后, 分别被铜伴侣蛋白送至特定蛋白质或者被金属硫蛋白 (metallothionein, MT) 螯合来加以利用或储存^[16]。随后, 铜转运 ATP 酶将铜从肝脏泵回血液中, 再次与可溶性伴侣结合并被转运至特定的组织和器官^[17]。到达靶器官后, 铜在广泛的生理过程中催化反应, 包括线粒体能量产生、酪氨酸和神经递质代谢、氧化还原稳态和细胞外基质重塑^[18-20]。多余的铜通过胆汁排泄 (内源性铜消除的主要形式), 作为未吸收的金属离子在粪便中消除^[21]。其他铜消除途径, 如尿液、汗液和月经, 在铜外排中起到的作用相对较小 (图 1)。

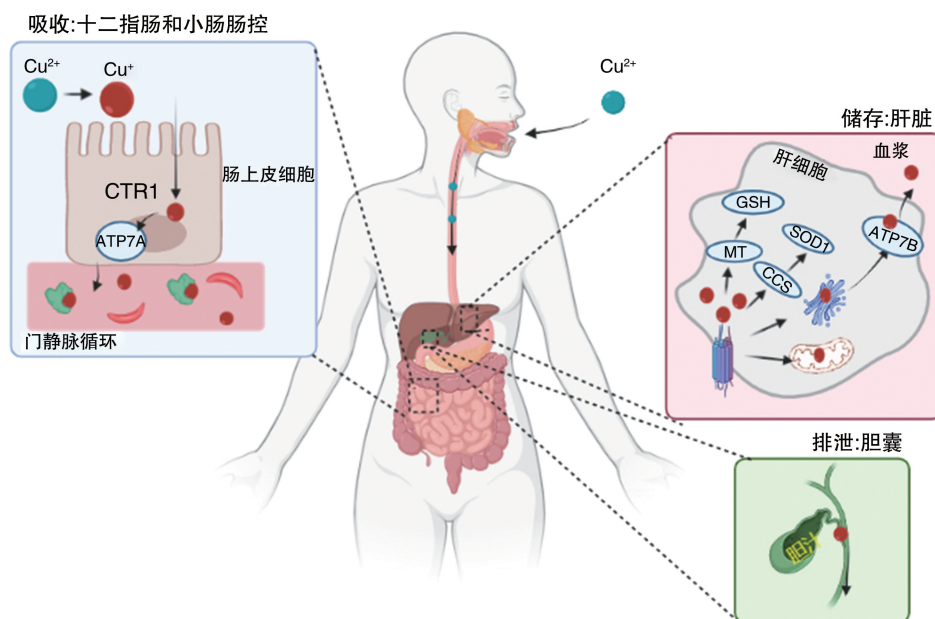


图 1. 铜在体内的代谢过程

ATP7A/B: 铜转运 ATP 酶; GSH: 谷胱甘肽; SOD1: 超氧化物歧化酶 1; CCS: 超氧化物歧化酶铜伴侣蛋白。

Figure 1. The metabolic process of copper in the body

1.2 细胞内铜离子代谢的调控

通常,细胞内铜的浓度相对较低。当细胞内铜水平升高时,过量的铜离子与线粒体蛋白结合,导致细胞死亡^[6]。在 CVD 中,铜过载会扰乱脂质代谢,并导致氧化应激、炎症、焦亡和铜死亡等。为了维持细胞的铜稳态,细胞内的铜含量由包括铜酶、铜伴侣和 CTR1 在内的铜转运蛋白进行调节,协调铜的输入、输出和细胞内利用。

CTR1 是一种具有高亲和力的铜摄取蛋白,负责将铜摄取到细胞内,其在肠上皮细胞膜上形成同源三聚体,以特异性地吸收 Cu^+ ^[22]。越来越多的证据表明,CTR1 在转运 Cu^+ 时,可能与金属还原酶协同工作,以实现铜的跨膜转运^[23]。 Cu^+ 进入细胞后,通过以下几个途径实现细胞内的利用:(1) 在细胞中,铜作为谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 复合物被螯合或储存在 MT 中。MT 和 GSH 也是参与细胞内螯合和储存过量铜的主要分子。此外,GSH 可以通过谷胱甘肽化或去谷胱甘肽化来调节铜转运 ATP 酶 (如 ATP7A 和 ATP7B) 的活性,参与调节细胞铜稳态^[24]。(2) 超氧化物歧化酶铜伴侣蛋白 (copper chaperone for superoxide dismutase, CCS) 将 Cu^+ 传递至超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1),参与该酶的成熟^[25],以发挥抗氧化应激作用。(3) 在反面高尔基网 (trans-Golgi network, TGN) 中,铜转运 ATP 酶 ATP7A 和 ATP7B 负责将由抗氧化蛋白 1 (antioxidant-1, ATOX-1) 传递而来的 Cu^+ 转移到 TGN 管腔中,并促进铜酶的合成^[26]。ATOX-1 还可以将 Cu^+ 转运到细胞核,与转录因子结合并驱动基因表达。(4) 在线粒体中,细胞色素 c 氧化酶铜伴侣蛋白 17 (cytochrome c oxidase copper chaperone 17, COX17) 与 Cu^+ 结合并将其传递至细胞色素 c 氧化酶铜伴侣蛋白 11 (cytochrome c oxidase copper chaperone 11, COX11) 和合成细胞色素 c 氧化酶 1 (synthesis of cytochrome c oxidase 1, SCO1)^[27],而后者又将 Cu^+ 转移至细胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase, CCO) 中。当细胞内的铜水平过高时,ATP7A 和 ATP7B 就会将 Cu^+ 从 TGN 转移到质膜,以促进 Cu^+ 的输出^[28]。当铜水平恢复到生理水平时,这些铜转运蛋白被回收回到 TGN^[28] (图 2)。

最近的证据表明,铜转运蛋白 (ATOX-1、ATP7A) 参与了心血管细胞的生理反应,包括细胞生长、迁移和血管生成。ATOX-1 通过促进损伤血管中 VSMC 迁移和炎症细胞募集,参与血管损伤后的新生内膜形成^[29]。Qin 等^[30] 报道,ATP7A 的下

调可减弱 THP-1 巨噬细胞 (macrophage, $\text{M}\phi$) 中低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 的氧化,这与胞质型磷脂酶 A2 (cytosolic phospholipase A2, cPLA2) (参与细胞介导的 LDL 氧化的关键细胞内酶) 的表达和酶活性降低有关。此外,ATP7A 下调可减少 $\text{M}\phi$ 浸润^[31]。这些证据表明铜转运蛋白 (ATOX1、ATP7A) 在心血管系统中发挥着关键作用。

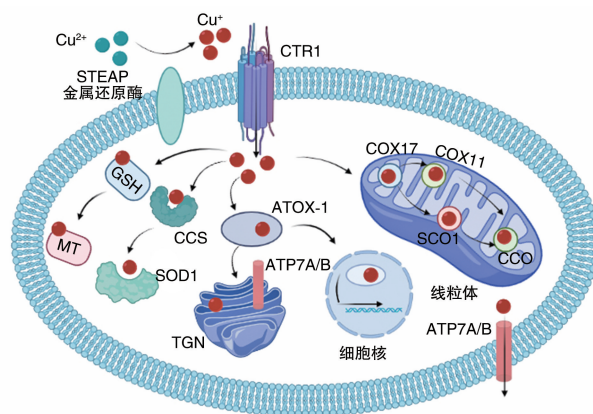


图 2. 细胞内铜稳态的维持
STEAP: 前列腺六跨膜表皮抗原。

Figure 2. Intracellular copper homeostasis maintenance

2 机体铜水平与 As 的关系

铜作为人体一种重要的微量营养元素和催化酶辅助因子,是多个生理过程所必需的,包括线粒体呼吸、血管生成、抗氧化等。尽管铜在生理上是不可或缺的,但当体内的铜离子积累过量的时候,就会导致各种炎症性血管疾病的发生,如 As 和主动脉瘤等^[32-33]。研究发现,人类 As 组织中铜浓度的差异可能不仅反映了 As 病变的阶段,也可能反映了 As 损伤的背景。机体的铜水平与 As 发生发展的相关性包括以下几点:(1) Koksall 等^[34] 发现,在 As 等病理炎性条件下,细胞内铜水平更高。进一步研究表明,邻络氨酸 (铜诱导蛋白氧化的标志物) 仅在晚期 As 病变中检测到,而不是在 As 早期^[35],因此推测铜水平仅在晚期 As 组织中升高。另有研究发现,增加铜摄入量可以降低人类 As 的风险^[36],这表明早期 As 病变中的铜浓度可能较低。(2) 此外,颈 As 患者钙化斑块和纤维脂质斑块之间的铜含量存在差异,纤维脂质斑块中的铜含量低于钙化斑块中的铜含量^[37]。(3) 铜水平与 As 发生发展的相关性也受其他合并症的影响。Diaf 等^[38] 发现糖尿病患者的膳食铜摄入量与 As 风险之间没有显著关联,但在

非糖尿病患者中,铜的摄入量与 As 风险显著相关。由此可见,在 As 的发展过程中铜水平的变化十分复杂,因此,机体铜水平与 As 发生发展的内在联系值得进一步探究。

3 铜过载参与 As 发生发展的可能机制

目前,现有的关于铜过载与 As 疾病的研究多是关联性分析,而铜过载参与 As 的作用机制尚不清楚。本文围绕 As 发生和发展中的关键环节,分别从铜过载诱发氧化应激、炎症反应、细胞焦亡和铜死亡的机制入手,寻找铜过载参与 As 的可能机制。

3.1 铜过载诱导的氧化应激参与 As 发生发展

当细胞内游离铜水平过高时,通过芬顿反应促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,并引发氧化应激^[39]。有研究表明,铜过载会破坏线粒体电子传递链的功能并诱导过量 ROS 的形成,从而产生羟基自由基并损害细胞的抗氧化功能^[40],造成细胞的氧化应激。其次,铜过载会显著降低 GSH 的水平^[41],GSH 的耗竭可能会增强 ROS 的细胞毒性作用,增强氧化应激^[42]。此外,铜过载会干扰抗氧化酶的表达和活性,包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px),导致 ROS 过度产生和抗氧化功能降低,从而引发氧化应激^[43-44]。使用含铜的水处理大鼠,发现给予 100 mg/L 含铜的水后,大鼠肝脏中抗氧化防御系统受到抑制,会增加脂质过氧化产物和丙二醛水平升高,耗竭 GSH 储备,诱导细胞中 ROS 的产生,产生铜毒性,进而引发氧化应激的发生^[45]。经过 TTM 治疗后,降低细胞内生物可利用铜量,缓解铜死亡,减弱 ROS 的产生能力^[46],抑制氧化应激的发生。

铜过载是诱导 ROS 过量的重要诱因,而 ROS 过量激活的氧化应激已经成为 As 的关键发病机制。氧化应激在整个 As 发生发展中持续存在,能够激活多种炎症因子,引发血管炎症;并且将滞留在内皮下的 LDL 氧化为氧化型低密度脂蛋白,进而诱发内皮功能障碍,最终导致 As 病变的恶化^[47]。因此,推测氧化应激可能是铜过载诱导 As 的可能机制之一。

3.2 铜过载诱导的炎症反应参与 As 发生发展

在病理性炎症条件下,组织铜水平显著增加^[34]。铜过载能够诱导各种炎症性血管疾病的发生^[48]。铜过载显著引起小胶质细胞(BV2)的炎症激活,增加 BV2 细胞中 ROS 的水平,并激活 NF- κ B

信号通路,进而导致 BV2 细胞的炎症激活^[49]。用氧化铜纳米颗粒(copper oxide nanoparticle, CuONP)处理小鼠的 M ϕ (J774A.1),发现包括 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)、Caspase-1 和白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)在内的促炎因子水平增加^[50]。另外,在溶酶体的酸性环境中,CuONP 通过释放铜离子攻击溶酶体,导致组织蛋白酶 B(cathepsin B, CTSB)的释放,CTSB 直接介导 NLRP3 炎症小体的激活^[50]。此外,CuONP 暴露通过激活髓系分化因子 88 依赖性 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/NF- κ B 级联表达 pro-IL-1 β ,这是 NLRP3 炎症小体激活的典型途径^[50-51]。同时,使用 TTM 能够使 ApoE^{-/-}小鼠血清中的血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)和细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)水平以及主动脉和心脏中的黏附分子、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)和促炎细胞因子的 mRNA 水平显著降低。与此同时,主动脉 M ϕ ,尤其是 M1 型 M ϕ 减少。这表明 TTM 通过螯合铜,降低了血管细胞中炎症介质的表达,从而阻止了血管炎症和 As 病变的发展^[51]。

上述证据确认了铜过载在诱导炎症中的关键性角色,而炎症已被证明在 As 的发生和发展中起着重要的作用^[52]。白细胞募集和促炎细胞因子在 As 发生的早期阶段起关键作用^[53]。在晚期 As 中,大量 M ϕ 和其他炎性细胞因子浸润血管壁,分泌基质金属蛋白酶,并降解斑块细胞外基质中的胶原纤维,导致斑块破裂、出血和血栓形成^[54]。可在此研究基础上以血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)为模型,进一步探索铜过载通过炎症诱导 As 病变的可能机制,为 As 防治提供新的治疗思路。

3.3 铜过载诱导的细胞焦亡参与 As 发生发展

研究发现,用过量铜处理猪空肠上皮细胞后,细胞焦亡的相关基因水平和蛋白水平随铜水平的升高而显著增强,这表明铜过载能够诱导细胞焦亡^[55]。同样,在肝细胞中,铜过载可诱导焦亡相关基因 Caspase-1、IL-1 β 、IL-18、NLRP3 的 mRNA 表达显著上调,相关蛋白含量也显著升高。但当 ROS 抑制剂 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)与铜联用时,可使焦亡相关基因和蛋白水平显著下调^[56],表明铜过载可能是通过 ROS 介导细胞焦亡。

焦亡与 As 的发展密切相关。一方面,在 As 的初始阶段内皮细胞(endothelial cell, EC)焦亡能够吸引单核细胞和其他炎症细胞跨内皮募集;另一方

面,在晚期的 As 病变中, M ϕ 的焦亡可能促进坏死核心的形成和斑块的不稳定性^[57]。此外, VSMC 焦亡可能释放促炎因子,导致持续的炎症,恶化 As,并导致斑块的不稳定性^[57]。铜过载与焦亡发生的相关研究尚不多见,可以此为切入点,将焦亡作为铜过载引发 As 的可能机制进行探索。

3.4 铜过载诱导的细胞铜死亡参与 As 发生发展

3.4.1 铜过载诱导的铜死亡 虽然铜是人体中必不可少的金属元素,但细胞内过量的铜会产生细胞毒性,危害正常的生理功能。不同重金属离子可以通过不同的途径诱导细胞死亡。例如,过量的 Zn 可以通过抑制 ATP 的合成来触发非凋亡性细胞死亡^[58-59]。过量积累的 Fe²⁺ 通过诱导铁依赖性脂质过氧化及 ROS 堆积从而引发氧化性细胞死亡^[60]。同样作为重金属离子,过量的铜是否会诱导细胞死亡? 1978 年, Chan 等^[61]就发现了当正常成纤维细胞培养基的铜浓度高于 30 mg/L(细胞内铜浓度是基础培养基的 19 倍)时,成纤维细胞死亡。然而,铜过载介导的细胞死亡机制尚不清楚。

2022 年 3 月, Tsvetkov 等^[62]在 SCIENCE 上发表的研究论文展示了一种由细胞内铜过载引发的铜依赖性的新型 RCD——铜死亡。研究^[6,62]中指出,铜离子载体 elesclomol(简称 ES,是铜死亡的诱导剂)处理人肺癌腺癌细胞(ABC1),发现细胞内 Cu²⁺ 水平升高会导致细胞的死亡;并且,这种铜依赖性的细胞死亡不同于已知的细胞死亡途径。铜死亡的机制是通过 Cu⁺ 靶向与 TCA 循环中脂酰化蛋白结合,随即诱导脂酰化的蛋白质聚集和 Fe-S 簇蛋白的减少,造成蛋白毒性应激和线粒体呼吸功能障碍,从而导致细胞死亡。目前细胞铜死亡与 As 的相关性及机制尚不清楚,推测细胞铜死亡可能通过以下两种途径促进 As 的发生和发展。

3.4.2 铜死亡过程中蛋白毒性应激可能促进 As 的发生发展 在细胞内 Cu²⁺ 发生积累时,铁氧还原蛋白 1(Ferredoxin 1, FDX-1)能够编码一种已知的还原酶,将 Cu²⁺ 还原为更具毒性的 Cu⁺ 形式,并催化二氢脂胺 S-琥珀酰转移酶(dihydrolipoamide S-succinyltransferase, DLST)、二氢硫辛酰胺 S-乙酰转移酶(dihydrolipoamide S-acetyltransferase, DLAT)和硫酰基合酶(lipoyl synthase, LIAs)发生蛋白脂酰化,而 Cu⁺ 进一步结合到 DLAT 的脂酰化部位,使 DLAT 发生低聚,造成蛋白毒性应激,从而获得铜毒性,诱导细胞死亡。目前在哺乳动物中,蛋白质脂酰化仅发生在四种酶上,这些酶参与了调节 TCA 循环碳进入

点的代谢复合物的形成^[63-64],包括二氢脂酰胺支链转酰基酶 E2、甘氨酸切割系统蛋白 H、DLAT 和 DLST。这些酶发挥功能必须经过蛋白质脂酰化,以便能够直接或间接地参与线粒体 TCA 循环当中,维持线粒体正常代谢^[64]。但当细胞内的 Cu⁺ 与 TCA 循环中的脂酰化蛋白结合后,会导致脂酰化蛋白依赖性低聚,诱导线粒体功能紊乱,造成蛋白毒性应激,进而导致铜依赖性细胞死亡。

蛋白毒性应激伴随着细胞内产生大量 ROS,而 ROS 是 As 病变过程中的主要诱因之一。大量 ROS 可激活 p38 信号,通过 NF- κ B 通路诱导 IL-6 等炎症因子的产生,这些信号通路诱导 VSMC 合成分化、迁移和增殖,导致脂质积聚进而促进 As^[65]。ROS 堆积还会导致 VEC 功能障碍,内皮一氧化氮合成酶受到抑制使得一氧化氮生成减少,氧化应激和一氧化氮的生成减少会促进在 As 发生中关键作用的因素发生,如 LDL 氧化、EC 激活和 M ϕ 浸润、激活等^[66]。因此,铜死亡过程中的蛋白毒性应激能否促进 As 的发生发展值得进一步探究(图 3)。

3.4.3 铜死亡过程中线粒体呼吸功能障碍可能促进 As 的发生发展 线粒体是细胞的主要能量来源,通过呼吸链完成氧化磷酸化和脂肪生成的 ATP 为绝大部分细胞活动提供“燃料”^[67]。线粒体约占细胞耗氧量的 90%,也被认为是铜中毒的重要靶点^[32]。相较于其他系统,心血管系统需要大量能量,线粒体呼吸提供了心血管系统消耗的大部分能量。研究指出^[6],更依赖于线粒体呼吸的细胞对 ES 的敏感性比经历糖酵解的细胞高约 1 000 倍,表明 ES 诱导的细胞铜死亡需要线粒体呼吸参与。铜死亡发生时,FDX-1 将 Cu²⁺ 还原为 Cu⁺,并将其释放在线粒体基质中,破坏 Fe-S 簇蛋白的合成^[68],Fe-S 簇蛋白被认为是线粒体呼吸链的重要辅因子。有研究表明,过量的铜会破坏合成 Fe-S 簇蛋白的基因^[69-71],并破坏含金属酶的成熟 Fe-S 簇^[72-73]。Fe-S 簇蛋白合成被破坏,影响线粒体呼吸复合物^[74],造成线粒体呼吸功能障碍,造成细胞死亡(图 3)。

线粒体呼吸功能障碍通过影响内皮功能、VSMC 增殖或凋亡以及 M ϕ 极化,促进 As 病变的发生和发展。已有证据表明,在 As 发生发展中,VEC 线粒体呼吸功能障碍会进一步促进血管内皮损伤、炎症反应^[75]。目前,铜死亡与 As 发生之间的关系少有研究,已知线粒体呼吸功能障碍可影响 As 的发生发展^[76],那么铜死亡能否通过诱导线粒体呼吸功能障碍从而促进 As 发生发展值得进一步研究。深入探讨铜死亡引发 As 的机制,将有助于更全面地了

解铜死亡在 As 病变发展和斑块稳定性中的作用。揭示 As 环境中铜死亡的潜在机制将有助于开发预防 As 的新策略。

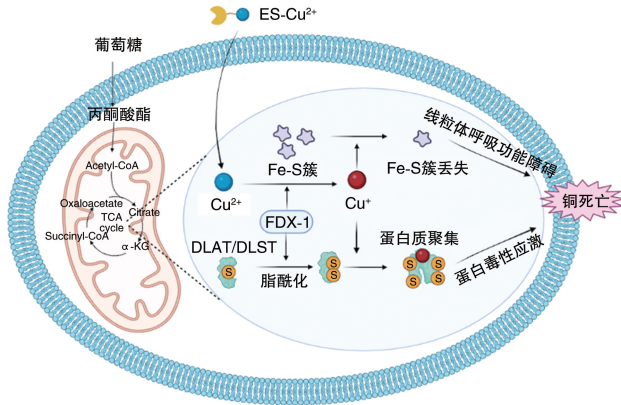


图 3. 铜死亡的调控机制

TCA cycle: 三羧酸循环; Acetyl-CoA: 乙酰辅酶 A; Citrate: 柠檬酸; α -KG: α 酮戊二酸; Succinyl-Co A: 琥珀酰辅酶 A; Oxaloacetate: 草酰乙酸。

Figure 3. Regulatory mechanism of cuproptosis

4 药物改善铜过载导致的 CVD

4.1 四硫代钼酸盐

TTM 是一种高度特异性的铜螯合剂, 可以通过减少生物可利用铜水平和抑制血管炎症来抑制 As 病变发展。研究发现, ApoE^{-/-} 小鼠经过 TTM 给药后, 主动脉组织内铜水平明显下降, As 病变明显减少,

且数据显示 TTM 治疗后不会改变血管铁稳态或导致严重贫血, 表明 TTM 主要是通过降低生物可利用铜来抑制 As 的发展^[5]。同时, TTM 能够剂量依赖性抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的 NF- κ B 和 AP-1 的活化, 以及 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 的 mRNA 和蛋白质的表达, 表明 TTM 可能是通过减弱 TNF- α 诱导的 EC 活化, 从而抑制 As 病变的发展^[77]。

4.2 三乙烯四胺

三乙烯四胺 (triethylenetetramine, TETA) 是一种与 Cu²⁺ 特异性和选择性结合的螯合剂^[78]。Yang 等^[79]发现, TETA 抑制了心肌缺血后血清铜水平的升高, 并有效消除了铜蓝蛋白活性的升高。心肌铜运输的改变是糖尿病诱发心力衰竭的一个关键致病因素, Zhang 等^[80]揭示, TETA 治疗可以通过恢复 CCO、CCS 和 SOD1 活性来恢复心肌细胞的铜运输, 从而改善糖尿病患者心脏的心肌功能。

4.3 姜黄素

姜黄是一种天然金属离子螯合剂, 姜黄素是姜黄的主要成分, 具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗病毒和抗癌的作用。在铜存在的情况下, 姜黄素具有清除自由基和维持抗氧化酶水平的功能^[81]。在肝细胞系 HepG2 中, 姜黄素能够促进铜的吸收, 以此来降低铜在细胞内的毒性作用^[82]。姜黄已被中医用于治疗代谢性疾病和 CVD^[83-84]。体内外实验均已证实姜黄治疗 CVD 的有效性^[85]。

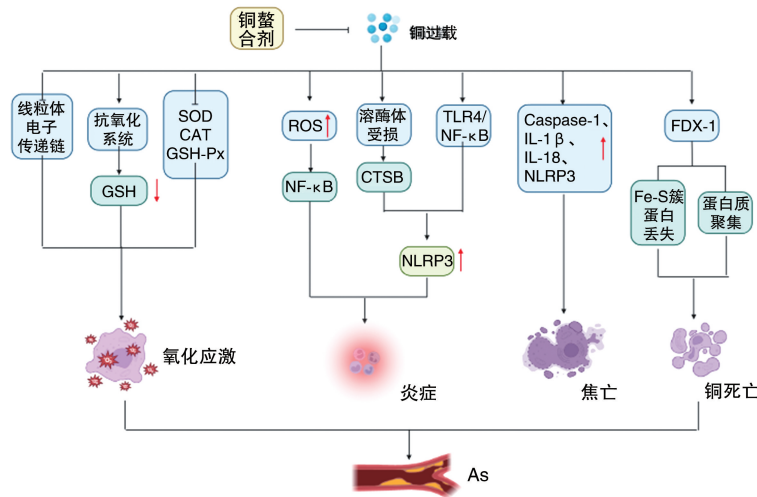


图 4. 铜过载参与 As 发生发展的可能机制

Figure 4. The possible mechanism of copper overload in the occurrence and development of As

5 展望

As 是引起脑卒中、心肌梗死、心律失常等重大

心脑血管疾病的共同病理学基础。了解 As 的病理过程是制定心血管保护策略的关键。近年来, 在动物模型和 As 的患者中, 体内铜离子代谢异常与 As

的相关性已被阐明。本文综述了铜过载可能参与 As 的几种机制,包括诱导氧化应激、引发炎症、诱发细胞焦亡和铜死亡,进而影响 As 斑块形成和破裂;但其引发 As 的病理机制仍未完全明确。铜死亡是一种铜依赖性的调节性细胞死亡方式,并与心血管病理学相关。铜死亡作为 ROS 过量的诱因,与蛋白毒性应激和线粒体呼吸功能障碍的相关机制紧密相连。现代研究中的某些活性成分有望通过抑制心血管系统中的铜过载来预防 As 的发生。

尽管各种研究已为铜过载及其介导的铜死亡提供了有意义的见解,但仍有许多问题亟待解决,如抑制铜死亡是否能够成为治疗 As 的新策略?铜过载诱导铜死亡后,参与 As 的具体机制是什么?哪些化合物或中药及其有效成分能够缓解铜死亡诱导的 As? 解决这些问题,将为防治 As 提供新的靶标,为开发治疗 As 疾病的药物提供新的科学依据。

[参考文献]

- [1] 王寅宇,王翠平. CD147:动脉粥样硬化治疗的新靶点? [J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(9): 821-828.
WANG Y Y, WANG C P. CD147: a new target for atherosclerosis therapy? [J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(9): 821-828.
- [2] FORD E S. Serum copper concentration and coronary heart disease among US adults[J]. Am J Epidemiol, 2000, 151(12): 1182-1188.
- [3] WANG D, TIAN Z Y, ZHANG P, et al. The molecular mechanisms of cuproptosis and its relevance to cardiovascular disease [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 163: 114830.
- [4] STADLER N, LINDNER R A, DAVIES M J. Direct detection and quantification of transition metal ions in human atherosclerotic plaques: evidence for the presence of elevated levels of iron and copper[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(5): 949-954.
- [5] WEI H, ZHANG W J, MCMILLEN T S, et al. Copper chelation by tetrathiomolybdate inhibits vascular inflammation and atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Atherosclerosis, 2012, 223(2): 306-313.
- [6] 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.
- [7] MAUNG M T, CARLSON A, OLEA-FLORES M, et al. The molecular and cellular basis of Copper dysregulation and its relationship with human pathologies[J]. FASEB J, 2021, 35(9): e21810.
- [8] YANG Y, FENG Q, LUAN Y, et al. Exploring cuproptosis as a mechanism and potential intervention target in cardiovascular diseases[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1229297.
- [9] FUKAI T, USHIO-FUKAI M, KAPLAN J H. Copper transporters and copper chaperones: roles in cardiovascular physiology and disease [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2018, 315(2): C186-C201.
- [10] BOULLATA J, MUTHUKUMARAN G, PIARULLI A, et al. Oral copper absorption in men with morbid obesity[J]. J Trace Elem Med Biol, 2017, 44: 146-150.
- [11] SHAWKI A, ANTHONY S R, NOSE Y, et al. Intestinal DMT1 is critical for iron absorption in the mouse but is not required for the absorption of copper or manganese[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2015, 309(8): G635-G647.
- [12] RAMOS D, MAR D, ISHIDA M, et al. Mechanism of copper uptake from blood plasma ceruloplasmin by mammalian cells [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0149516.
- [13] MORIYA M, HO Y H, GRANA A, et al. Copper is taken up efficiently from albumin and alpha2-macroglobulin by cultured human cells by more than one mechanism[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2008, 295(3): C708-C721.
- [14] LIU N M, LO L S L, ASKARY S H, et al. Transcuprein is a macroglobulin regulated by copper and iron availability [J]. J Nutr Biochem, 2007, 18(9): 597-608.
- [15] ROBERTS E A, SARKAR B. Liver as a key organ in the supply, storage, and excretion of copper[J]. Am J Clin Nutr, 2008, 88(3): 851S-854S.
- [16] LUZA S C, SPEISKY H C. Liver copper storage and transport during development: implications for cytotoxicity [J]. Am J Clin Nutr, 1996, 63(5): 812S-820S.
- [17] LA FONTAINE S, ACKLAND M L, MERCER J F B. Mammalian copper-transporting P-type ATPases, ATP7A and ATP7B: emerging roles[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(2): 206-209.
- [18] LUTSENKO S. Copper trafficking to the secretory pathway [J]. Metallomics, 2016, 8(9): 840-852.
- [19] LUTSENKO S, BHATTACHARJEE A, HUBBARD A L. Copper handling machinery of the brain [J]. Metallomics, 2010, 2(9): 596-608.
- [20] LUTSENKO S, LESHANE E S, SHINDE U. Biochemical basis of regulation of human copper-transporting ATPases [J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 463(2): 134-148.
- [21] LINDER M C. Copper homeostasis in mammals, with emphasis on secretion and excretion. A review [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(14): 4932.
- [22] GALLER T, LEBRUN V, RAIBAUT L, et al. How trimerization of CTR1 N-terminal model peptides tunes Cu-binding and redox-chemistry [J]. Chem Commun (Camb), 2020, 56(81): 12194-12197.
- [23] OHGAMI R S, CAMPAGNA D R, MCDONALD A, et al. The steep proteins are metalloredoxases [J]. Blood, 2006, 108(4): 1388-1394.
- [24] SINGLETON W C J, MCINNES K T, CATER M A, et al. Role of glutaredoxin1 and glutathione in regulating the activity of the copper-transporting p-type ATPases, ATP7A and ATP7B [J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(35): 27111-27121.
- [25] CULOTTA V C, KLOMP L W, STRAIN J, et al. The copper chaperone for superoxide dismutase [J]. J Biol Chem, 1997, 272(38): 23469-23472.
- [26] LUTSENKO S, BARNES N L, BARTEE M Y, et al. Function and regulation of human copper-transporting ATPases [J]. Physiol Rev, 2007, 87(3): 1011-1046.
- [27] HORNG Y C, COBINE P A, MAXFIELD A B, et al. Specific copper transfer from the Cox17 metallochaperone to both Sco1 and Cox11 in the assembly of yeast cytochrome C oxidase [J]. J Biol

- Chem, 2004, 279(34): 35334-35340.
- [28] LA FONTAINE S, MERCER J F B. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: role in Copper homeostasis[J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 463(2): 149-167.
- [29] KOHNO T, URAO N, ASHINO T, et al. Novel role of copper transport protein antioxidant-1 in neointimal formation after vascular injury[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(4): 805-813.
- [30] QIN Z Y, KONANIAH E S, NELTNER B, et al. Participation of ATP7A in macrophage mediated oxidation of LDL[J]. J Lipid Res, 2010, 51(6): 1471-1477.
- [31] KIM H W, CHAN Q L, AFTON S E, et al. Human macrophage ATP7A is localized in the trans-Golgi apparatus, controls intracellular copper levels, and mediates macrophage responses to dermal wounds[J]. Inflammation, 2012, 35(1): 167-175.
- [32] COBINE P A, BRADY D C. Cuproptosis: cellular and molecular mechanisms underlying copper-induced cell death[J]. Mol Cell, 2022, 82(10): 1786-1787.
- [33] SUDHAHAR V, DAS A, HORIMATSU T, et al. Copper transporter ATP7A (copper-transporting P-Type ATPase/menkes ATPase) limits vascular inflammation and aortic aneurysm development; role of MicroRNA-125b[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(11): 2320-2337.
- [34] KOKSAL C, ERCAN M, BOZKURT A K, et al. Abdominal aortic aneurysm or aortic occlusive disease; role of trace element imbalance[J]. Angiology, 2007, 58(2): 191-195.
- [35] FU S, DAVIES M J, STOCKER R, et al. Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque[J]. Biochem J, 1998, 333(Pt 3): 519-525.
- [36] BÜGEL S, HARPER A, ROCK E, et al. Effect of copper supplementation on indices of copper status and certain CVD risk markers in young healthy women[J]. Br J Nutr, 2005, 94(2): 231-236.
- [37] TASIĆ N M, TASIĆ D, OTAŠEVIĆ P, et al. Copper and zinc concentrations in atherosclerotic plaque and serum in relation to lipid metabolism in patients with carotid atherosclerosis[J]. Vojnosanit Pregl, 2015, 72(9): 801-806.
- [38] DIAF M, KHALED M B. Associations between dietary antioxidant intake and markers of atherosclerosis in Middle-Aged women from North-Western Algeria[J]. Front Nutr, 2018, 5: 29.
- [39] GUPTE A, MUMPER R J. Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment[J]. Cancer Treat Rev, 2009, 35(1): 32-46.
- [40] BELYAEVA E A, SOKOLOVA T V, EMELANOVA L V, et al. Mitochondrial electron transport chain in heavy metal-induced neurotoxicity: effects of cadmium, mercury, and copper[J]. ScientificWorldJournal, 2012, 2012: 136063.
- [41] SPEISKY H, GÓMEZ M, BURGOS-BRAVO F, et al. Generation of superoxide radicals by copper-glutathione complexes; redox-consequences associated with their interaction with reduced glutathione[J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(5): 1803-1810.
- [42] STEINEBACH O M, WOLTERBEEK H T. Role of cytosolic copper, metallothionein and glutathione in copper toxicity in rat hepatoma tissue culture cells[J]. Toxicology, 1994, 92(1/3): 75-90.
- [43] LIU H, GUO H R, JIAN Z J, et al. Copper induces oxidative stress and apoptosis in the mouse liver[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 1359164.
- [44] DEL RIO D, STEWART A J, PELLEGRINI N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress[J]. Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2005, 15(4): 316-328.
- [45] OZCELIK D, OZARAS R, GUREL Z, et al. Copper-mediated oxidative stress in rat liver[J]. Biol Trace Elem Res, 2003, 96(1/3): 209-215.
- [46] SMIRNOVA J, KABIN E, JÄRVING I, et al. Copper(I)-binding properties of de-coppering drugs for the treatment of Wilson disease. α -Lipoic acid as a potential anti-copper agent[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 1463.
- [47] KATTOOR A J, POTHINENI N V K, PALAGIRI D, et al. Oxidative stress in atherosclerosis[J]. Curr Atheroscler Rep, 2017, 19(11): 42.
- [48] BREWER G J. Tetrathiomolybdate anticopper therapy for Wilson's disease inhibits angiogenesis, fibrosis and inflammation[J]. J Cell Mol Med, 2003, 7(1): 11-20.
- [49] ZHOU Q, ZHANG Y, LU L, et al. Copper induces microglia-mediated neuroinflammation through ROS/NF- κ B pathway and mitophagy disorder[J]. Food Chem Toxicol, 2022, 168: 113369.
- [50] TAO X Q, WAN X L, WU D, et al. A tandem activation of NLRP3 inflammasome induced by copper oxide nanoparticles and dissolved copper ion in J774A.1 macrophage[J]. J Hazard Mater, 2021, 411: 125134.
- [51] SWANSON K V, DENG M, TING J P Y. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics[J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(8): 477-489.
- [52] LIBBY P, RIDKER P M, HANSSON G K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis[J]. Nature, 2011, 473(7347): 317-325.
- [53] WOLF D, LEY K. Immunity and inflammation in atherosclerosis. Circ Res. 2019, 124(2): 315-327.
- [54] LIU Y F, YU H M, ZHANG Y, et al. TLRs are important inflammatory factors in atherosclerosis and may be a therapeutic target[J]. Med Hypotheses, 2008, 70(2): 314-316.
- [55] LIAO J Z, HU Z Y, LI Q W, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to copper-induced pyroptosis via regulating the IRE1 α -XBP1 pathway in pig jejunal epithelial cells[J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(4): 1293-1303.
- [56] 张裕恒. 铜通过 ROS 介导的 caspase-1 途径诱导鸡肝细胞焦亡[D]. 广州: 华南农业大学, 2018: 1-31.
- ZHANG Y H. Copper induces hepatic pyroptosis in chicken liver through ROS mediated Caspase-1 pathway [D]. Guangzhou: College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, 2018: 1-31.
- [57] XU Y J, ZHENG L, HU Y W, et al. Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2018, 476: 28-37.
- [58] DINELEY K E, VOTYAKOVA T V, REYNOLDS I J. Zinc inhibition of cellular energy production: implications for mitochondria and neurodegeneration [J]. J Neurochem, 2003, 85(3):

- 563-570.
- [59] DU W, GU M, HU M, et al. Lysosomal Zn²⁺ release triggers rapid, mitochondria-mediated, non-apoptotic cell death in metastatic melanoma[J]. *Cell Rep*, 2021, 37(3): 109848.
- [60] 朱利, 吴鸿飞. 铁死亡在动脉粥样硬化中的作用及中医药干预研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(2): 244-252.
- ZHU L, WU H F. Effect of ferroptosis on atherosclerosis and chinese medicine intervention: a review[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2023, 29(2): 244-252.
- [61] CHAN W Y, GARNICA A D, RENNERT O M. Cell culture studies of Menkes kinky hair disease[J]. *Clin Chim Acta*, 1978, 88(3): 495-507.
- [62] TSVETKOV P, DETAPPE A, CAI K, et al. Mitochondrial metabolism promotes adaptation to proteotoxic stress[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(7): 681-689.
- [63] SOLMONSON A, DEBERARDINIS R J. Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(20): 7522-7530.
- [64] ROWLAND E A, SNOWDEN C K, CRISTEA I M. Protein lipoylation: an evolutionarily conserved metabolic regulator of health and disease[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2018, 42: 76-85.
- [65] YE H C C, WU J Y, LEE G L, et al. Vanadium derivative exposure promotes functional alterations of VSMCs and consequent atherosclerosis via ROS/p38/NF-kappaB-Mediated IL-6 production[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 7522-7530.
- [66] FÖRSTERMANN U, XIA N, LI H G. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2017, 120(4): 713-735.
- [67] MCKENZIE M, LAZAROU M, THORBURN D R, et al. Analysis of mitochondrial subunit assembly into respiratory chain complexes using blue native polyacrylamide gel electrophoresis[J]. *Anal Biochem*, 2007, 364(2): 128-137.
- [68] CAI K, TONELLI M, FREDERICK R O, et al. Human mitochondrial ferredoxin 1 (FDX1) and ferredoxin 2 (FDX2) both bind cysteine desulfurase and donate electrons for Iron-Sulfur cluster biosynthesis[J]. *Biochemistry*, 2017, 56(3): 487-499.
- [69] TAN G Q, CHENG Z S, PANG Y L, et al. Copper binding in IscA inhibits iron-sulphur cluster assembly in *Escherichia coli*[J]. *Mol Microbiol*, 2014, 93(4): 629-644.
- [70] FUNG D K C, LAU W Y, CHAN W T, et al. Copper efflux is induced during anaerobic amino acid limitation in *Escherichia coli* to protect iron-sulfur cluster enzymes and biogenesis[J]. *J Bacteriol*, 2013, 195(20): 4556-4568.
- [71] CHILLAPPAGARI S, SEUBERT A, TRIP H, et al. Copper stress affects iron homeostasis by destabilizing iron-sulfur cluster formation in *Bacillus subtilis*[J]. *J Bacteriol*, 2010, 192(10): 2512-2524.
- [72] MACOMBER L, IMLAY J A. The iron-sulfur clusters of dehydratases are primary intracellular targets of copper toxicity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(20): 8344-8349.
- [73] ROCHE B, AUSSEL L, EZRATY B, et al. Reprint of: iron/sulfur proteins biogenesis in prokaryotes: formation, regulation and diversity[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1827(8/9): 923-937.
- [74] CAO H, SU R, HU G, et al. In vivo effects of high dietary copper levels on hepatocellular mitochondrial respiration and electron transport chain enzymes in broilers[J]. *Br Poult Sci*, 2016, 57(1): 63-70.
- [75] ROY C S K, SANGLE G V, XIE X, et al. Effects of extensively oxidized low-density lipoprotein on mitochondrial function and reactive oxygen species in porcine aortic endothelial cells[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(1): E89.
- [76] 王志丹, 宋囡, 吕美君, 等. 益气健脾化痰祛瘀方对脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马小型猪肝脏线粒体能量代谢的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(9): 4107-4110.
- WANG Z D, SONG N, LV M J, et al. Effects of yiqijianpi huatanquyu formula on the liver mitochondrial energy metabolism of atherosclerosis Bama mini pigs with spleen deficiency and phlegm coagulation syndrome[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2017, 32(9): 4107-4110.
- [77] WEI H, ZHANG W J, LEBOEUF R, et al. Copper induces--and copper chelation by tetrathiomolybdate inhibits--endothelial activation *in vitro*[J]. *Redox Rep*, 2014, 19(1): 40-48.
- [78] COOPER G J S. Therapeutic potential of copper chelation with triethylenetetramine in managing diabetes mellitus and Alzheimer's disease[J]. *Drugs*, 2011, 71(10): 1281-1320.
- [79] YANG D, WANG T, LIU J M, et al. Reverse regulation of hepatic ceruloplasmin production in rat model of myocardial ischemia[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2021, 64: 126686.
- [80] ZHANG S P, LIU H, AMARSINGH G V, et al. Restoration of myocellular copper-trafficking proteins and mitochondrial copper enzymes repairs cardiac function in rats with diabetes-evoked heart failure[J]. *Metallomics*, 2020, 12(2): 259-272.
- [81] LEUNG M H, HARADA T, KEE T W. Delivery of curcumin and medicinal effects of the copper(II)-curcumin complexes[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(11): 2070.
- [82] BERZINA A, MARTINSONE I, SVIRSKIS S, et al. Curcumin effect on copper transport in HepG2 cells[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2018, 54(2): 14.
- [83] KOCAADAM B, CURCUMIN S N. An active component of turmeric(curcuma longa), and its effects on health[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(13): 2889.
- [84] GUO B D, YANG F Y, ZHANG L P, et al. Cuproptosis induced by ROS responsive nanoparticles with elesclomol and copper combined with α PD-L1 for enhanced cancer immunotherapy[J]. *Adv Mater*, 2023, 35(22): e2212267.
- [85] ZHANG H A, KITTS D D. Turmeric and its bioactive constituents trigger cell signaling mechanisms that protect against diabetes and cardiovascular diseases[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(10): 3785-3814.

(此文编辑 王颖)