

铜死亡相关基因在肿瘤中的研究进展

唐钰涵,高源,王露,赵文辉

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院,黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:铜的蓄积会导致调节性细胞死亡,这种死亡形式被称为铜死亡。铜死亡可能在多种癌症的发生、进展和预后中发挥作用,而铜死亡相关基因(cuproptosis-related genes,CRGs)也可能与肿瘤预后有关,并作为肿瘤临床特征和肿瘤微环境的有用预测因子。CRGs可以作为诊断或治疗这些疾病的潜在生物靶点。全文对CRGs及其与肿瘤临床特征及肿瘤微环境的相关研究进行了总结。

关键词:铜死亡相关基因;肿瘤;预后;肿瘤微环境

中图分类号:R730.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2023)09-0787-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2023.09.B011

Progress on Association of Cuproptosis-related Genes with Malignant Tumors

TANG Yuhan, GAO Yuan, WANG Lu, ZHAO Wenhui

(Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

Abstract: Copper accumulation leads to cell death, which known as cuproptosis. Cuproptosis is associated with the occurrence, progression and prognosis, indicating that cuproptosis-related genes (CRGs) may serve as markers for cancer diagnosis, predictors for patient prognosis, as well as potential biological targets for tumor treatment. This review summarizes the research progress on CRGs and their relationship with malignant tumors.

Subject words: cuproptosis-related genes; cancer; prognosis; microenvironment

1 铜死亡与铜死亡相关基因概述

2022年研究人员发现了一种新的细胞死亡机制,与已知的凋亡、焦亡、坏死性凋亡和铁死亡有显著的不同,并将其命名为“铜死亡”。铜死亡的主要过程依赖于细胞内铜离子的积累,铜离子直接结合三羧酸循环(tricarboxylic acid,TCA)中的脂酰化成分,导致这些蛋白聚集、失调,阻断了TCA循环,引发了蛋白质毒性应激,并诱导细胞死亡。研究者进行全基因组有规律间隔的短链码重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats,CRISPR)筛选,寻找铜死亡相关基因(cuproptosis-related genes,CRGs),其中有7个基因可以促进铜死亡:FDX1、LIAS、LIPT1、DLD、DLAT、PDHA1、PDHB;3个铜死亡抑制基因:MTF1、GLS、CDKN2A,2个关键的

铜转运蛋白:ATP7B、SLC31A1^[1]。

1.1 铜死亡中枢基因 FDX1

FDX1编码的还原酶使二价铜离子转化为毒性更强的一价铜离子,并调节蛋白质脂酰化,促进脂酰化DLAT的寡聚形成,并随后诱导蛋白质毒性应激,这使FDX1在铜死亡中起到关键性作用。FDX1被认为是铜死亡的中枢调节因子,FDX1耗竭将导致蛋白质脂酰化完全丧失、细胞呼吸减少、丙酮酸和 α -酮戊二酸蓄积、琥珀酸减少以及Fe-S簇蛋白稳定性降低^[2-3]。

1.2 LA通路相关基因 LIPT1、LIAS 和 DLD

LIPT1、LIAS和DLD是硫辛酸蛋白质加工修饰中的重要成分,硫辛酸是参与线粒体代谢中间体氧化脱羧酶所必需的关键物质。LIPT1、LIAS表达的蛋白均属于LA通路,介导乙醛代谢关键酶(acetaldehyde metabolism key enzymes,PDC)等蛋白的转录后硫辛酸修饰,而DLD参与PDC的E3成分的形成^[4]。

基金项目:北京医学奖励基金(YXJL-2021-0421-0382)

通信作者:赵文辉,E-mail:0187@hrbmu.edu.cn

收稿日期:2023-06-02;**修回日期:**2023-07-31

1.3 编码PDH复合物相关基因 *DLAT*、*PDHA1* 和 *PDHB*

DLAT、*PDHA1* 和 *PDHB* 编码丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase, PDH) 复合物的脂化成分。丙酮酸脱氢酶 (E1)、二氢脂酰乙酰转移酶 (E2) 和脂酰脱氢酶 (E3) 共同组成 PDH 复合物, PDH 复合物催化丙酮酸氧化脱羧形成乙酰辅酶 A, 从而将糖酵解途径与 TCA 循环联系起来^[5]。*DLAT* 编码 PDH 的 E2 成分。*PDHA1* 编码 PDH 含有 E1 活性位点的 E1 α 1 亚单位 (E1 酶是由两个 α 和两个 β 亚基组成的异源四聚体)。*PDHB* 编码 E1 的 β 亚单位^[6]。

1.4 CRGs 抑制基因 *MTF1*、*GLS*、*CDKN2A*

MTF1 是一种激活下游靶基因从而提升细胞存活的转录因子, 它包含锌指结构^[7]。*GLS* 编码的是 K 型线粒体谷氨酰胺酶, 产物转化为 TCA 循环代谢产物^[8]。*GLS* 和 *MTF1* 可能通过影响铜离子结合物质谷胱甘肽 (L-glutathione, GSH) 和金属硫蛋白 (metallothionein, MT) 的细胞内水平来影响细胞对铜死亡的敏感性。*CDKN2A* 又称为 *P16* 基因, 是一种多肿瘤抑制基因, 转录的蛋白质可以通过与 E3 泛素蛋白连接酶 (E3 ubiquitin protein ligase, MDM2) 稳定结合并有效地抑制肿瘤细胞 *P53* 表达^[9]。

1.5 铜转运蛋白编码基因 *ATP7B*、*SLC31A1*

ATP7B 是 P 型阳离子转运三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 酶家族的成员, 编码的蛋白有至少 2 个假定的铜结合位点, 该蛋白是一个单体, 其功能是作为铜转运 ATP 酶, 将铜输出到细胞外, 其基因的突变特点是铜蓄积。*SLC31A1* 编码的蛋白是一种在细胞膜上发现的高亲和力铜转运体, 以同源三聚体的形式发挥作用, 影响食物中铜的吸收^[10]。

2 CRGs 与肿瘤预后和免疫浸润的研究

2.1 铜死亡中枢基因 *FDX1*

FDX1 在大多数肿瘤中低表达, 例如乳腺癌、肾嫌色细胞癌和结直肠癌。结直肠癌患者中 *FDX1* 表达水平较高者总生存期 (overall survival, OS) 和疾病特异性生存期均显著性优于低表达组。*FDX1* 表达水平在胶质母细胞瘤、低级别胶质细胞瘤和非肿瘤脑组织中存在显著性差异, 在胶质母细胞瘤中上调, 并且在神经胶质细胞瘤、脑低级别胶质细胞瘤患

者中 *FDX1* 高表达与不良预后相关。*FDX1* 与脑低级别胶质细胞瘤在免疫细胞浸润、免疫检查点、肿瘤干性、同源重组缺陷和肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden, TMB) 中观察到正相关^[11]。在正常组织中, *FDX1* 基因的表达水平高于原发性肿瘤组织。在肿瘤组织中 *FDX1* 基因表达水平高的患者预后更好。此外, 结直肠癌中的 *FDX1* 高表达与肿瘤细胞侵袭性呈负相关, *FDX1* 表达与自然杀伤细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞和中性粒细胞的浸润水平呈正相关; 相反, *FDX1* 表达与 CD4⁺ T 淋巴细胞和癌相关成纤维细胞的表达呈负相关^[12]。*FDX1* 在肾透明细胞癌中为抑癌基因, 其在肿瘤组织中的表达水平显著性降低; 在分子机制水平上, *FDX1* 正调控脂肪酸代谢和氧化磷酸化。此外, *FDX1* 过表达通过增加白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和 TNF- γ 的分泌水平抑制肾透明细胞癌的肿瘤恶性并增强肿瘤免疫力^[13]。*FDX1* 高表达与肾乳头状细胞癌及肾混合细胞癌较好的预后高度相关^[14]。

2.2 LA 通路相关基因 *LIPT1*、*LIAS* 和 *DLD*

LIAS 在大多数肿瘤中低表达, 如乳腺癌、子宫内膜癌、食管癌、膀胱尿路上皮癌^[15]。*LIAS* 高表达在肾透明细胞癌、肾乳头状细胞癌及肾混合细胞癌中与更好 OS 相关; 而其高表达与肾嫌色细胞癌更差 OS 相关。肺癌患者高 *LIAS* 表达被认为与较差的预后相关; 而在卵巢癌中, *LIAS* 表达被认为与更好的预后相关; *LIAS* 在急性髓系白血病及肺癌中 *LIAS* 高表达, 而高表达却与更差的预后有关^[16]。

LIPT1 在大多数肿瘤中低表达, 例如子宫内膜癌、乳腺癌、宫颈鳞癌和腺癌^[17], 可以作为胶质细胞瘤和肝细胞肝癌的促癌基因, *LIPT1* 高表达者预后更差。在恶性黑色素瘤中, *LIPT1* 表达与调节性 T 细胞 (regulatory cells, Tregs) 呈负相关, 而与 PD-L1 表达呈正相关。*LIPT1* 表达较高的恶性黑色素瘤患者在接受免疫治疗后的 OS 比 *LIPT1* 表达较低的患者更长, *LIPT1* 可能通过调节干扰素 (interferon, IFN) 通路从而增强对机体免疫治疗的效果。*LIPT1* 在多种肿瘤与多个免疫检查点的表达相关, 尤其是 PD-L1^[18]。

DLD 在大多数肿瘤中高表达, 而在肾混合细胞癌、肾透明细胞癌、肾母细胞瘤、肾上皮细胞瘤、胃癌和食管癌中低表达^[19]。在肾混合细胞癌、肾透明细胞

癌中 *DLD* 高表达者预后更好,为抑癌基因;而在胶质细胞瘤及多形性胶质细胞瘤中表达水平高于癌旁正常组织,且 *DLD* 高表达预后更差^[20]。

2.3 编码 PDH 复合物相关基因 *DLAT*、*PDHA1* 和 *PDHB*

DLAT 在大多数肿瘤中高表达,而在肾混合细胞癌、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、膀胱尿路上皮癌中低表达^[21],肾乳头状细胞癌及肾透明细胞癌中 *DLAT* 高表达者预后更好^[22]。*PDHA1* 在肾透明细胞癌、肾嫌色细胞癌及肾混合细胞癌中高表达预后更好,且基因在肾透明细胞癌和肾混合细胞癌中表达量低于癌旁正常组织^[23]。高水平的 *PDHA1* 被认为与肺癌患者更好的预后相关,可以用作肿瘤微环境的生物标志物^[24]。*PDHB* 在神经乳头状细胞癌中预后更好,而在急性髓系白血病中预后更差^[25]。

2.4 CRGs 抑制基因 *MTF1*、*GLS*、*CDKN2A*

MTF1 在大部分肿瘤中低表达,而在脑低级别胶质细胞瘤、急性髓系白血病及肝细胞肝癌中高表达,高于癌旁正常组织^[13],且相关基因高表达与较差的预后相关^[24]。*MTF1* 具有致癌作用,并通过促进上皮间质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT),从而促进卵巢肿瘤转移。在 P53 存在的乳腺癌细胞中,*MTF1* 可被锌和铜激活,通过与 MT 启动子中的金属反应元件结合,激活铜结合蛋白 MT 的转录。

GLS 在急性髓系白血病及肝细胞肝癌中高表达^[13],且 *GLS* 基因高表达预后更差^[25]。

CDKN2A 在除外睾丸癌的绝大部分肿瘤细胞中高表达^[13],并与更差的预后相关。CDK 抑制剂的异构体和 *CDKN2A* 编码的 ARF 产物在细胞周期 G₁ 控制中具有共同功能。通过 CDK4 和 P53 在细胞周期 G₁ 进展中起调控作用。研究认为,高 *CDKN2A* 表达与免疫细胞浸润水平密切相关^[26]。

2.5 铜转运蛋白编码基因 *ATP7B*、*SLC31A1*

ATP7B 在大部分肿瘤中高表达,如乳腺癌、结直肠癌、子宫内膜癌、胃癌。*ATP7B* 高表达的患者显示出更好的预后,例如肾透明细胞癌、胶质细胞瘤、神经母细胞瘤等^[27]。

SLC31A1 在大部分肿瘤中高表达,例如乳腺癌、膀胱尿路上皮癌、急性髓系白血病、肾上腺皮质瘤^[13,28]。*SLC31A1* 和 *ATP7B* 微卫星灶与肺癌风险相关,提示 CRGs 表达水平也可能影响肺癌的进展过程^[29]。

在大多数研究中,免疫检查点基因 (immune checkpoint genes, ICGs) 在 CRGs 高风险评分组中始终保持高表达,然而在宫颈癌、乳腺癌和皮肤恶性黑色素瘤的高风险组中 ICGs 的表达水平较低。先前的研究已经证实,铜可以调节 PD-L1 的表达,而 PD-L1 则是免疫治疗中至关重要的靶点^[30],在大多数使用免疫治疗队列验证的研究中,CRGs 低风险组的免疫治疗预后较好^[31]。尽管越来越多的研究人员旨在构建与 CRGs 特征来预测肿瘤预后,但其中只有少数在细胞系或临床样本中通过体内外实验检测得到生物学验证。

3 CRGs 与其他相关基因的研究

多项研究表明,铜死亡可能与细胞坏死或铁死亡相互作用,并分别通过将 CRGs 与坏死相关基因或铁死亡相关基因共同构建风险模型。在一项关于脑低级别胶质细胞瘤患者预后风险的研究中,通过比例风险回归模型探究 CRGs 和细胞坏死相关基因与临床特征的关系,并从中挑选出 5 个对预后模型有重要影响的基因,这些基因在之前的研究中被认为与坏死性凋亡相关^[32]。在关于结直肠癌的研究中,研究人员选择了 CRGs 和铁死亡相关基因来构建预后特征,然而却未描述每个基因对模型的贡献^[33]。

大多数铜死亡和铁死亡调节因子表现出相当的突变频率,铜死亡和铁死亡调节因子之间有很强的相关性。在不同的癌症中,铁死亡相关枢纽基因的数量与铜死亡相关枢纽基因的数量密切相关。在不同的癌症中,铜死亡和铁死亡调节因子之间存在相互作用。在乳腺癌细胞系中,*ATF2* 降低导致了表皮生长调节因子的显著变化。研究人员将小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 和短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 转染到非小细胞肺癌细胞系来探究铜死亡和铁死亡调节因子之间的相互作用关系。经敲除人第 10 号染色体缺失的磷酸酶(phosphatase and tensin, PTEN)后 *SL31A1* 表达显著性上升,敲除线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 后 *ATP7A* 水平升高,而敲除 *ATF2* 后 *LIPT1* 水平被抑制,表明铜死亡和铁死亡调节因子之间存在着密切的联系^[34]。

铜,虽是必需酶的辅助因子,与肿瘤细胞中的多

个信号通路直接相关,但细胞需维持稳态机制,铜过量会导致细胞死亡。随着铜死亡概念的引入,越来越多的研究人员开始探索其与肿瘤的关系。然而,由于生物学证据和实验验证不足,这些研究仅间接证明了铜死亡与癌症之间存在联系,关于 CRGs 是否在铜死亡与肿瘤的关系中起直接作用或间接影响尚不清楚,还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Sheftel AD, Stehling O, Pierik AJ, et al. Humans possess two mitochondrial ferredoxins, FDX1 and FDX2, with distinct roles in steroidogenesis, heme, and Fe/S cluster biosynthesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(26): 11775–11780.
- [3] Cai K, Tonelli M, Frederick RO, 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.
- [4] Solmonson A, DeBerardinis RJ. Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(20): 7522–7530.
- [5] Patel MS, Nemeria NS, Furey W, et al. The pyruvate dehydrogenase complexes: structure-based function and regulation[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(24): 16615–16623.
- [6] Dan Li, Wang C, Ma P, et al. PGC1 α promotes cholangiocarcinoma metastasis by upregulating PDHA1 and MPC1 expression to reverse the Warburg effect[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 466.
- [7] Han H, Nakaoka HJ, Hofmann L, et al. The Hippo pathway kinases LATS1 and LATS2 attenuate cellular responses to heavy metals through phosphorylating MTF1[J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(1): 74–87.
- [8] Brugnera E, Georgiev O, Radtke F, et al. Cloning, chromosomal mapping and characterization of the human metal-regulatory transcription factor MTF-1[J]. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22(15): 3167–3173.
- [9] Rumping L, Büttner B, Maier O, et al. Identification of a loss-of-function mutation in the context of glutaminase deficiency and neonatal epileptic encephalopathy[J]. *JAMA Neurol*, 2019, 76(3): 342–350.
- [10] Cottone L, Eden N, Usher I, et al. Frequent alterations in p16/CDKN2A identified by immunohistochemistry and FISH in chordoma[J]. *J Pathol Clin Res*, 2020, 6(2): 113–123.
- [11] Yun Y, Wang Y, Yang E, et al. Cuproptosis-related gene- SLC31A1, FDX1 and ATP7B-polymorphisms are associated with risk of lung cancer[J]. *Pharmgenomics Pers Med*, 2022, 15: 733–742.
- [12] Li L, Li L, Sun Q. High expression of cuproptosis-related SLC31A1 gene in relation to unfavorable outcome and deregulated immune cell infiltration in breast cancer: an analysis based on public databases [J]. *BMC Bioinformatics*, 2022, 23(1): 350.
- [13] Liu H. Pan-cancer profiles of the cuproptosis gene set[J]. *Am J Cancer Res*, 2022, 12(8): 4074–4081.
- [14] Huang W, Wu YL, Zhu JH, et al. Pan-cancer integrated bioinformatics analysis reveals cuproptosis related gene FDX1 is a potential prognostic and immunotherapeutic biomarker for lower-grade gliomas[J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 7, 10: 963639.
- [15] Yang W, Wang Y, Huang Y, et al. 4-Octyl itaconate inhibits aerobic glycolysis by targeting GAPDH to promote Cuproptosis in colorectal cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 159: 114301.
- [16] Shen J, Wang L, Bi J. Bioinformatics analysis and experimental validation of cuproptosis-related lncRNA LINC02154 in clear cell renal cell carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1): 160.
- [17] Zhang C, Zeng Y, Guo X, et al. Pan-cancer analyses confirmed the cuproptosis-related gene FDX1 as an immunotherapy predictor and prognostic biomarker [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 923737.
- [18] Cai Y, He Q, Liu W, et al. Comprehensive analysis of the potential cuproptosis-related biomarker LIAS that regulates prognosis and immunotherapy of pan-cancers [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 952129.
- [19] Zhang Q, Ma L, Zhou H, et al. A prognostic signature of cuproptosis and TCA-related genes for hepatocellular carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1040736.
- [20] Sun P, Xu H, Zhu K, et al. The cuproptosis related genes signature predicts the prognosis and correlates with the immune status of clear cell renal cell carcinoma[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 1061382.
- [21] Zhou C, Li C, Zheng Y, et al. Regulation, genomics, and clinical characteristics of cuproptosis regulators in pancreatic cancer[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 934076.

- [22] Guo T,Zhang J,Yuan Z,et al. Cuproptosis-related genes are associated with cell cycle and serve as the prognostic signature for clear cell renal cell carcinoma[J]. J Clin Med,2022,11(24):7507.
- [23] Luo D,Liu S,Luo J,et al. Characterization of cuproptosis identified immune microenvironment and prognosis in acute myeloid leukemia[J]. Clin Transl Oncol,2023,25(8):2393–2407.
- [24] Zhao X,Chen J,Yin S,et al. The expression of cuproptosis-related genes in hepatocellular carcinoma and their relationships with prognosis [J]. Front Oncol,2022,12:992468.
- [25] Nie G,Peng D,Wen N,et al. Cuproptosis-related genes score: a predictor for hepatocellular carcinoma prognosis, immunotherapy efficacy,and metabolic reprogramming[J]. Front Oncol,2023,13:1096351.
- [26] Qin H,Sheng W,Zhang G,et al. Comprehensive analysis of cuproptosis-related prognostic gene signature and tumor immune microenvironment in HCC[J]. Front Genet,2023,14:1094793.
- [27] O’Connell E,Reynolds IS,Salvucci M,et al. Mucinous and non-mucinous colorectal cancers show differential expression of chemotherapy metabolism and resistance genes [J]. Pharmacogenomics J,2021,21(4):510–519.
- [28] Kong FS,Ren CY,Jia R,et al. Systematic pan-cancer analysis identifies SLC31A1 as a biomarker in multiple tumor types[J]. BMC Med Genomics,2023,16(1):61.
- [29] Fujita K,Motoyama S,Sato Y,et al. Effects of SLC31A1 and ATP7B polymorphisms on platinum resistance in patients with esophageal squamous cell carcinoma receiving neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. Med Oncol,2021,38(1):6.
- [30] Ayati N,Lee ST,Zakavi SR,et al. Response evaluation and survival prediction after PD-1 immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer: comparison of assessment methods[J]. J Nucl Med,2021,62(7):926–933.
- [31] Yang X,Wang X,Sun X,et al. Construction of five cuproptosis-related lncRNA signature for predicting prognosis and immune activity in skin cutaneous melanoma[J]. Front Genet,2022,13:972899.
- [32] Miao Y,Liu J,Liu X,et al. Machine learning identification of cuproptosis and necroptosis-associated molecular subtypes to aid in prognosis assessment and immunotherapy response prediction in low-grade glioma[J]. Front Genet,2022,13:951239.
- [33] Li Y,Wang RY,Deng YJ,et al. Molecular characteristics, clinical significance,and cancer immune interactions of cuproptosis and ferroptosis-associated genes in colorectal cancer[J]. Front Oncol,2022,12:975859.
- [34] Shen Y,Li D,Liang Q,Yet al. Cross-talk between cuproptosis and ferroptosis regulators defines the tumor microenvironment for the prediction of prognosis and therapies in lung adenocarcinoma[J]. Front Immunol,2023,13:1029092.