中国科学: 化学 2018 年 第 48 卷 第 11 期: 1385 ~ 1393
SCIENTIA SINICA Chimica chemcn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

评 述 化学生物学驱动的药物创新专刊

铜转运蛋白与癌症的研究进展

张美琪, 陈林, 王晶*

北京大学药学院化学生物学系, 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191
*通讯作者, E-mail: wangjingsioc@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2018-04-09; 接受日期: 2018-06-19; 网络版发表日期: 2018-10-10
国家重点研发计划(编号: 2017YFA0505202)、国家自然科学基金(编号: 21672014)、国家"千人计划"青年项目、北京大学医学部和天然药物及仿生药物国家重点实验室资助项目

摘要 铜是所有生物体中必不可少的一类具有氧化还原性质的过渡金属, 也是催化抗氧化、铁稳态、细胞呼吸和各种生化过程关键酶的辅助因子. 但是, 由于其潜在的毒副作用, 细胞内游离的铜离子必须受到严格的调控. 铜离子平衡的失调会导致包括癌症和神经退行性疾病的发生和发展. 例如, 铜离子的积累可能会导致氧化应激的增加以及与大分子非特异性地结合. 因此, 大多数细胞进化出复杂的铜调节和转运系统, 以满足细胞对铜离子的需求, 同时减少其潜在的毒性. 本文详细介绍了铜转运蛋白Ctr1、铜伴侣蛋白CCS、Atox1、COX17对于维持细胞内铜离子平衡的重要意义, 同时着重介绍了铜伴侣蛋白在肿瘤中的研究进展以及相关药物的发展, 为铜紊乱疾病治疗新靶点的发现和药物的研发提供了理论基础.

关键词 铜, 铜伴侣蛋白Atox1、CCS、COX17, 铜转运机制, 肿瘤, 靶向药物

1 引言

铜是一种过渡金属元素, 地壳中的含量仅占全部元素的0.00007%. 在人体中含有约100 mg的铜[1], 而细胞内的铜元素主要以一价铜离子(Cu^+)和二价铜离子(Cu^{2+})这两种氧化还原状态存在, Cu^+主要与含硫的氨基酸结合, 如半胱氨酸、甲硫氨酸, 而Cu^{2+}主要与含氧或含氮的氨基酸结合, 如天冬氨酸、谷氨酸、组氨酸等, 因此铜离子能与多种蛋白和酶结合, 从而作为辅助因子广泛参与诸多生物学过程, 其中包括中枢神经系统调控、心血管发育、线粒体能量产生等[2]. 而细胞内铜离子水平的失衡则会导致多种疾病的产生. 例如, 细胞中铜离子水平下降会导致神经退行性疾病如Menkes病、阿尔兹海默症等[3]; 铜在肝脏内的蓄积则引起严重的肝形态学和功能改变, 从而引起肝炎、肝硬化、Wilson病甚至肝功能衰竭[4]; 铜还能诱导细胞内活性氧簇ROS水平升高, 进而引起eIF2α磷酸化, 引发氮氧自由基合酶(NOS)介导的细胞氧化应激损伤[5]. 因此, 细胞内铜离子的摄取、分配、利用、分泌等都必须受到严格的调控. 研究发现, 铜离子在体内不是自由存在的, 而是与蛋白紧密结合, 随后通过蛋白-蛋白相互作用将铜离子正确地传递到相应的铜离子结合酶, 而过量的铜离子则被代谢出机体组织外, 从而避免毒副作用的产生. 在铜离子转运系统中, 铜离子伴侣蛋白在维持细胞内的铜离子平衡过程中起着至关重要的作用(图1). 近些年来, 国内外针对铜转运/伴侣蛋白展

引用格式: Zhang M, Chen L, Wang J. Recent advances in copper chaperone and cancer. *Sci Sin Chim*, 2018, 48: 1385–1393, doi: 10.1360/N032018-00087

© 2018 《中国科学》杂志社

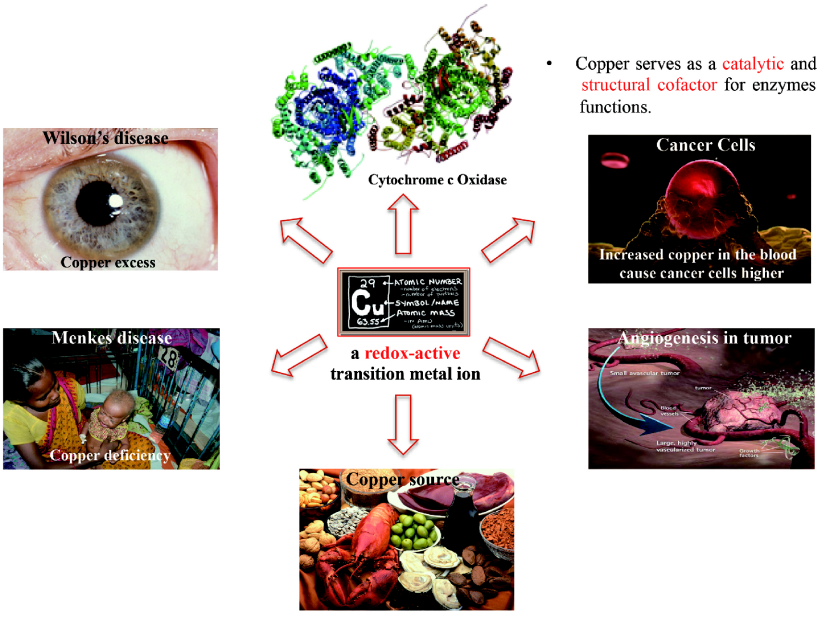


图 1 铜在生物体内的重要作用(网络版彩图)
Figure 1 The biological role of copper in humans (color online).

开了大量的研究工作, 并取得重大的进展. 基于此, 本综述从铜伴侣蛋白角度阐述了铜转运系统的研究成果, 特别是对在肿瘤的发生与发展中的重要作用进行了总结和展望.

2 哺乳动物细胞内铜转运系统

生物系统已经进化出复杂而精密的铜转运系统调控铜在细胞内外的流动, 包括铜在小肠末端及十二指肠的吸收[6]、铜伴侣蛋白在细胞内转运铜靶向于特定蛋白[7]、外排泵排出细胞内过量的铜[8]、金属调节因子感知细胞内铜水平并控制有关金属蛋白的表达[9]. 人体中, 消化道上皮细胞表面存在还原酶, 能将饮食中的二价铜还原为一价铜, 从而提高细胞膜上铜转运蛋白Ctr1 (copper transport protein 1)与铜的结合力, 进而由Ctr1介导一价铜离子从细胞外转运至细胞内[6]. 铜离子进入细胞质后主要有以下3种分布途径[10]: (1) 在分泌途径, 主要由位于细胞质的铜伴侣蛋白Atox1 (antioxidant 1)转运铜离子到位于高尔基体的P-型铜转运ATP酶(copper-transporting P-type ATPase, ATP7A/B), 进而转运至铜依赖性蛋白酶如铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)和赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)中, 并介导细胞内过量铜离子外排; (2) 细胞质和线粒体中存在的另一种铜伴侣蛋白CCS (copper chaperone for superoxide dismutase 1)将铜离子转运给超氧化物歧化酶1 (superoxide dismutase 1, SOD1), 铜离子作为SOD1的辅助因子激活SOD1的活性, 从而清除细胞内过量的超氧自由基; (3) 铜伴侣蛋白COX17 (cytochrome c oxidase copper chaperone)则可以将铜离子转运至线粒体内, 并在其他铜转运蛋白如SCO1、SCO2、COX11、COX19等的协同作用下, 将铜离子转运至细胞色素c氧化酶(cytochrome c oxidase, CCO), 从而参与氧化酶复合物的组装及成熟(图2).

2.1 铜转运蛋白Ctr1: 介导铜离子转运至细胞内

Ctr1是从酵母到哺乳细胞都高度保守的铜转运蛋白, 主要位于细胞膜上负责将铜离子从细胞外转运至细胞质内[11]. Ctr1能在细胞膜和胞质囊泡之间循环并且调节其在细胞内的丰度和定位, 从而使其快速响应细胞内铜的需求, 特异性地摄取一价铜离子进入细胞内[12]. Unger课题组[13]利用电子晶体学对Ctr1进行结构研究, 表明Ctr1为同源三聚体结构, 单体含有3个跨膜结构域. Ctr1单体分子量为23 kDa, 有190个氨基酸残基, 具有富含甲硫氨酸的细胞外N端结构域以及具有HCH模体的13个残基组成的能与铜离子结合的胞质尾部[14]. 第二跨膜结构域上存在MX3M模体, 研

究表明MX3M模体在铜离子的摄取中具有重要意义(图3)[15]. 铜离子一经Ctr1转入细胞内, 细胞质中的受体蛋白会立即与铜离子结合[16], 包括铜伴侣蛋白Atox1和CCS, 分别负责将铜离子转运至高尔基体或者超氧化物歧化酶SOD1中. 除此以外, 细胞内谷胱甘肽(GSH)也可以结合铜离子, 并介导Ctr1和胞质铜伴侣蛋白产生间接的相互作用[16]. 尽管Ctr1负责将细胞所需80%以上的铜转运至细胞质中[17], 细胞内同时还存在另一种低亲和性的铜转运蛋白Ctr2, 该蛋白主要存在于细胞囊泡上. Ctr1和Ctr2具有41%的氨基酸同源性, 并且拓扑学结构非常相似, 都是以三聚体形式三次跨膜存在生物膜上. 不同的是, Ctr2-N端富含甲硫氨酸的结构域略短, C端尾部不含有HCH模体. 据报道[18], Ctr1和Ctr2在细胞中彼此相辅相成, 协同控制铜离子在细胞内外的流动以及细胞内铜储库的含量[19]. 研究证明, Ctr2突变后错位定位于细胞膜可以替代Ctr1转运铜离子[20]. 同时, Ctr2是SODs蛋白表达的抑制剂, 表明Ctr2在调节其他铜结合蛋白稳态的过程中具有重要的作用[21].

动物体内研究证实, 在Ctr1基因缺乏鼠妊娠实验中, 胚胎发育到10~12 d就会明显发现比正常发育的胚胎个体要小很多, 同时伴随着组织和细胞发育异常, 更为严重的是有部分胚胎死亡. 该结果表明, Ctr1在胚胎发育过程中具有至关重要的作用[22]. 研究还表明, 当机体内缺乏Ctr1蛋白后, 由于细胞内缺乏铜离子, 会导致由细胞色素c氧化酶功能紊乱引起的呼吸障碍以及氧化损伤, 金属蛋白活性降低. 因此, Ctr1蛋白在细胞代谢过程中同样具有重要的作用.

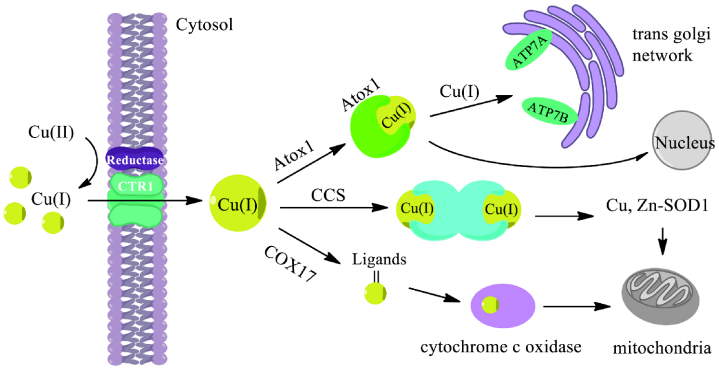


图2　铜在细胞内的转运通路(网络版彩图)
Figure 2　Copper trafficking pathways in humans (color online).

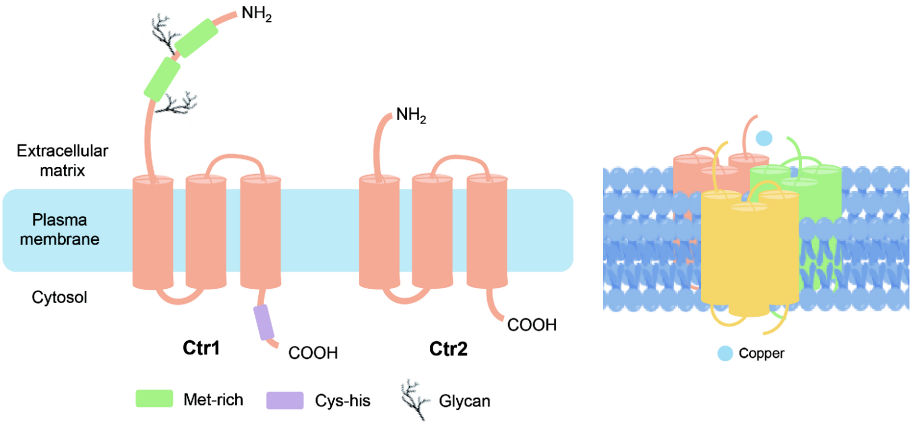


图3　铜转运蛋白Ctr1转运铜离子的通道(网络版彩图)
Figure 3　Structural model for the Ctr1 Cu^{+} channel (color online).

2.2 铜伴侣蛋白Atox1: 负责铜离子在细胞内的分泌途径

Atox1蛋白主要定位于细胞质中, 在不同物种中高度保守, 是维持细胞内铜离子动态平衡的关键铜伴侣蛋白. 在人源细胞中, 铜离子与Atox1结合后被转运至高尔基体内, 铜离子与位于高尔基体内的铜离子结合蛋白ATP7A和ATP7B的N端保守序列GMTCXXC结合, 通过配体交换将铜离子转运至ATP7A和ATP7B中. 当细胞内铜离子浓度过高时会诱导ATP7A和ATP7B迁移, ATP7A介导铜离子转运至细胞外基质的基底外膜, 而ATP7B介导铜离子转运出肝细胞, 进入胆汁[23], 从而将多余的铜离子排泄(图4). 这一过程可同时激活多种铜依赖的酶, 从而参与包括神经递质合成、铁离子释放、新血管形成、伤口愈合和血压调节等诸多生物学过程[24]. 近年来研究发现, Atox1除作为铜伴侣蛋白外还具有转录因子的活性. Atox1能够依靠C端高度保守的核定位信号序列KKTGK进入细胞核, 在铜离子存在的情况下结合到蛋白cyclinD1的GAAAGA启动子区域, 提高cyclinD1的mRNA和蛋白表达水平, 从而影响铜诱导的细胞增殖[25]. 通过全基因组分析发现, GAAAGA序列在不同物种中具有高度保守性, 该序列存在于32个基因的启动子区域, 而这些基因可能都会受到Atox1的转录调控[26]. 其中, Atox1能与位于细胞外基质的超氧化物歧化酶SOD3的启动子区GAAAGA序列结合, 调控SOD3的转录和表达, 从而影响细胞外超氧阴离子自由基的水平, 从而影响血管氧化应激压力, 进而调控血压和内皮功能[27]. 在小鼠后肢缺血模型中, Atox1能够调控NADPH氧化酶P47phox的表达, 促进内皮细胞

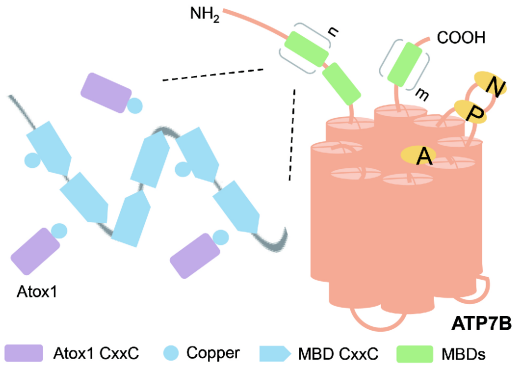


图4 铜伴侣蛋白Atox1参与铜离子在细胞内的分泌途径(网络版彩图)

Figure 4 Cu^{+} delivery to P-type ATPases (color online).

中活性氧簇ROS水平升高以及炎症细胞浸润, 从而诱导新血管的生成[28]. 在小鼠皮肤伤口愈合模型中, 小鼠受伤时细胞中铜离子含量和细胞核中Atox1的表达水平均上升[29], Atox1稳定敲低后伤口愈合速率减慢, 说明Atox1在伤口愈合中具有重要作用. 上述研究证明, Atox1对于维持细胞内铜离子平衡, 响应细胞中多种功能性调控机制具有至关重要的作用. 因此, 详细理解Atox1在细胞中的功能具有重要的生物学意义.

2.3 铜伴侣蛋白CCS: 铜离子参与的翻译后调控

铜伴侣蛋白CCS介导将铜离子转运至超氧化物歧化酶SOD1中. SOD1是维持细胞内氧化还原稳态的重要蛋白酶, 当与锌离子和铜离子结合后具有重要的催化活性, 可以将超氧阴离子自由基歧化为氧气和过氧化氢, 从而清除细胞内超氧自由基的损伤. 晶体结构证明, CCS具有3个结构域, 其中结构域1含有与Atox1相同的、高度保守的铜结合位点CXXC序列; 结构域2则具有与SOD1相似的结构, 通过类似亚基之间的相互作用特异性识别未成熟的SOD1, 辅助结构域1与SOD1进行铜离子的传递; 而在C端的结构域3具有氧化还原酶的功能, 其具有CXC的序列, 用于结合铜离子并辅助CCS将铜离子传递给SOD1 (图5)[30]. 近年来的研究成果表明, CCS能够稳定未结合金属离子的SOD1. 结构域2能与部分锌结合SOD1形成稳定复合物, 防止未成熟SOD1的聚合, 促进铜、锌离子结合, 从而激活SOD1的酶活性[31]. 而CCS作为SOD1的铜伴侣蛋白, 其表达量也会受到细胞内铜离子浓度的影响. 研究发现, 细胞内铜离子浓度的改变可以显著影响CCS的表达, 铜离子一旦过量则会诱导CCS表达量的显著降低, 因此CCS可以作为鉴定铜离子浓度变化的早期生物标志. CCS和SOD1不仅存在于细胞质中, 也存在于线粒体膜间隙, 参与线粒体自由基消除及氧化应激损伤的修复. 然而, 关于CCS是如何被转运至线粒体膜间隙的机制尚不明确. 最近的研究表明[32], 位于细胞质中的CCS依赖于线粒体膜间隙的成熟CCS, 从而转运至线粒体中. 细胞质中未折叠的、还原性CCS与膜间隙中存在的成熟CCS通过结构域2相互作用, 未成熟的CCS转运至线粒体膜间隙中, 被氧化并正确折叠成为成熟CCS. 该过程与Mia40转运蛋白进入线粒体膜间隙类似. 同时动物模型表明, 在小鼠体内过表达CCS会导致线粒体呼吸作用障碍, 从而对ALS疾病产生促

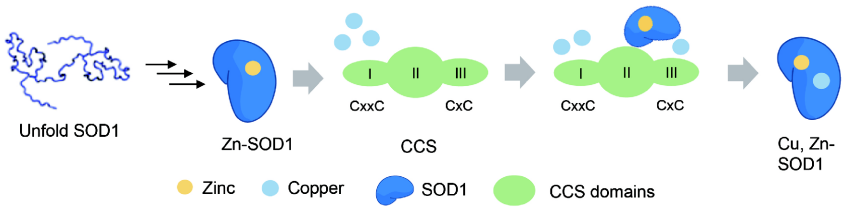


图5　铜伴侣蛋白CCS转运铜离子通路(网络版彩图)
Figure 5　Copper insertion into Cu/Zn SOD by the CCS Cu chaperone (color online).

进作用[33,34]. 此外, 研究还发现, CCS可以与β位淀粉样前体蛋白裂解酶BACE1和神经受体蛋白X11α相互作用. 通过敲除神经细胞内CCS可以诱导BACE1的剪切, 从而导致Aβ蛋白表达的增加, 证明了CCS可能对Aβ蛋白具有抑制作用, 具体机制还需要进一步深入的研究.

2.4　铜伴侣蛋白COX17: 线粒体中的铜转运蛋白

作为真核细胞氧化代谢、能量产生的重要场所, 线粒体中也存在一些铜依赖性酶如细胞色素c氧化酶(CCO), 而铜伴侣蛋白COX17是关键的线粒体铜伴侣蛋白, 负责将铜离子转运至线粒体并参与线粒体中铜结合蛋白的铜离子组装[35]. COX17在心脏、大脑和肾脏等代谢旺盛的组织中的表达要显著高于其他组织[36], 证明COX17的表达和细胞的氧化呼吸水平呈正比. 而COX17也是第一个被发现的在细胞色素c氧化酶合成过程中与铜离子转运相关的蛋白(图6). CCO是由14个结构亚基组成的多聚体蛋白质复合物, 由核基因和线粒体基因共同控制表达, 该酶的催化活性需要引入两个血红素基团和两个铜离子辅助因子Cu_A和Cu_B[37]. 铜伴侣蛋白COX17存在于细胞质和线粒体膜间隙中, 携带细胞质中的铜离子转运至线粒体并参与CCO复合物的组装. 该过程还由一系列铜转运蛋白协助完成, 具体过程如下: COX17将铜离子转运至位于线粒体膜间隙的COX11, COX11介导铜离子装配至COX1亚基的Cu_B结合位点; COX17同时将铜离子转运给线粒体中的SCO1, 并将铜离子装配至位于COX2亚基的Cu_A结合位点. COX19是另一种在线粒体膜间隙存在的铜结合蛋白, 与COX17结构类似. 研究表明, COX11的半胱氨酸残基氧化后能够促进COX19结合铜离子, 因此, COX11和COX19在铜离子转运过程中可能存在协同作用, 共同辅助COX17在线粒体中的铜伴侣蛋白功能[38]. 近期研究表明, COX17除了具有将铜离子转运到COX蛋白的主要功能外, 在光照的条件下, 还可以诱导H_2O_2的含量升高, 表明COX17可能还具有金属解毒、活性氧保护以及信号传导等生理学功能[39].

3　铜离子和铜伴侣蛋白与肿瘤的发生发展密切相关

近年来研究显示, 肿瘤组织和肿瘤患者体内血清铜离子水平显著高于正常组织, 其含量是正常组织的10倍以上, 因此细胞内铜离子水平与肿瘤的发生发展必然存在着密切的联系[40]. 一方面, 铜离子能直接结合并促进血管生成因子的表达, 从而促进肿瘤组织的血管生成[41]; 另一方面, 铜离子能激活肿瘤细胞内增殖、代谢相关的蛋白酶, 从而影响肿瘤细胞侵袭与转移. 临床证据表明, 在癌变组织和病人血清中, 铜离子水平显著升高, 而其他金属离子(铁、锌)水平则较大幅度地降低[40]. 研究还证实, 铜伴侣蛋白Atox1和CCS在乳腺癌、直肠癌、子宫癌和肝癌中的表达水平升高, 导致与铜相关的酶活性显著地增加, 从而促进肿瘤细胞的增殖和转移. 而在胆管和胰腺癌中Atox1与CCS的表达水平降低, 铜离子分泌减少, 细胞内游离的铜离子水平增加, 从而促进胆管和胰腺癌的发生. 而在迁移的乳腺癌细胞中, 发现Atox1在板状伪足处富集, 低表达Atox1时可以抑制乳腺癌细胞迁移[42]. 2013年, Kim课题组[43]发现, 当Atox1作为铜依赖的转录因子进入细胞核后, 能够调节血小板源生长因子信号通路, 从而导致恶性肿瘤血管的生成及重构. 研究还发现, COX17在子宫癌、直肠癌和乳腺癌中表达水平明显升高, 而在胰腺和胆管肿瘤中的表达则是下调的[44]. 在甲状腺癌、乳腺癌、黑色素瘤等多种癌症细胞中均可检测到BRAF V600E的突变, 该突变证实可以持续地激活MAPK信号通路[45]. 2014年, Counter课题组[46]发现, 铜离子可以与MEK结合, 激活ERK1/2磷酸化水平, 促进肿瘤的增殖. 具体机制表明, 通过低表达的铜

离子转运蛋白Ctr1或者突变MEK1的铜离子结合位点, 可以影响MEK1与铜离子的结合, 从而抑制BRAF诱导的信号通路传递, 显著地抑制小鼠体内肿瘤生长. 而铜离子螯合剂TTM被证实可以降低BRAF V600E诱导的肿瘤生长, 表明在治疗BRAF V600E肿瘤时, 铜离子螯合剂可与MAPK信号通路抑制剂联合用药(图7(A)). 临床研究还证实, TTM可能对诱发转移的小肿瘤更为有效, 其作用机制是通过阻断血管生成来抑制癌细胞的增殖. 此外, 近期研究表明, 戒酒药物双硫仑化合物在体内代谢后的产物可以与铜离子生成配合物(CuET), 而该复合物可以阻断癌细胞处理错误折叠蛋白的细胞机制, 从而发挥抗癌的活性(图7(B))[47].

然而, 尽管四硫钼酸盐TTM螯合肿瘤细胞内过量铜离子, 通过抑制肿瘤血管生成从而抑制肿瘤的生长. 但是由于TTM等金属螯合剂缺乏对金属离子的选择性, 可能会导致严重的金属聚积毒性. 因此, 另一种有效改变铜离子平衡的方法则是阻断铜离子转运蛋白之间的相互作用. 2015年芝加哥大学何川教授和上海药物所蒋华良研究员[48]基于化学生物学手段, 通过药物设计和虚拟筛选策略, 从20万个类药分子的化合物库

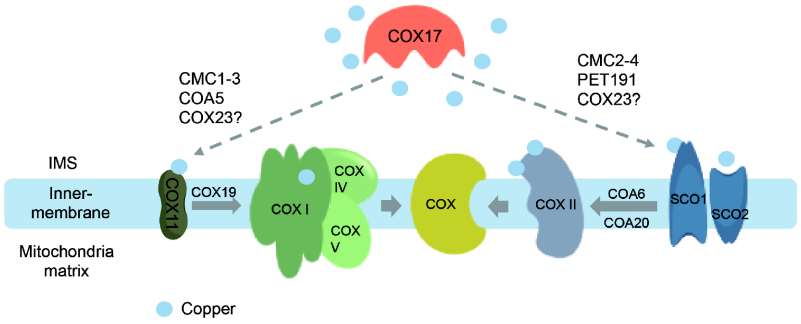


图6 铜伴侣蛋白COX17参与铜离子在线粒体中的转运(网络版彩图)
Figure 6 Cu loading of mitochondrial cytochrome oxidase (color online).

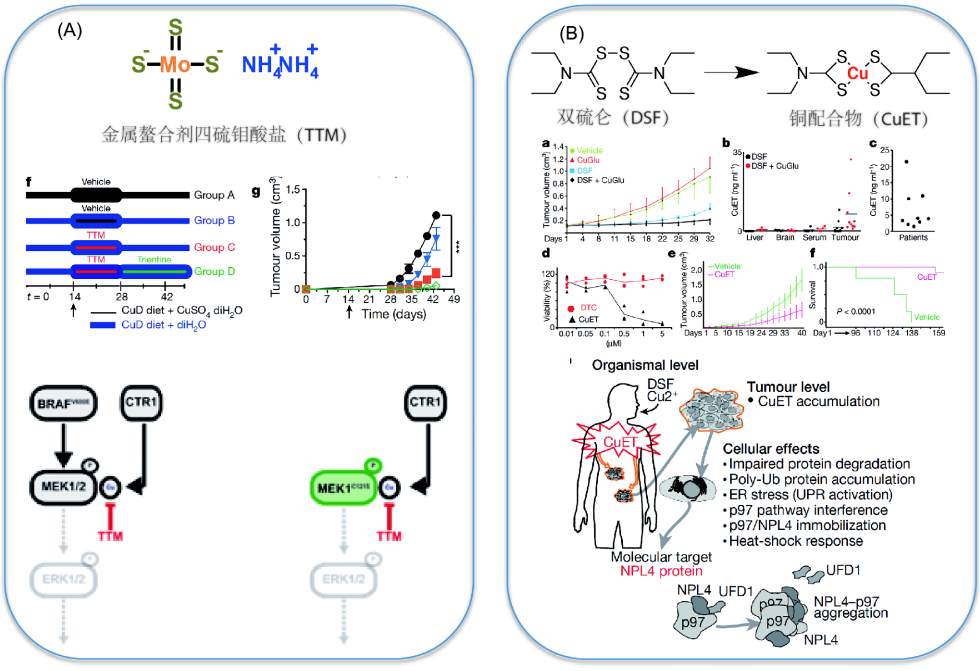


图7 铜离子螯合剂TTM和CuET抗肿瘤研究结果(网络版彩图)
Figure 7 Copper chelator TTM and CuET repurposing against cancer (color online).

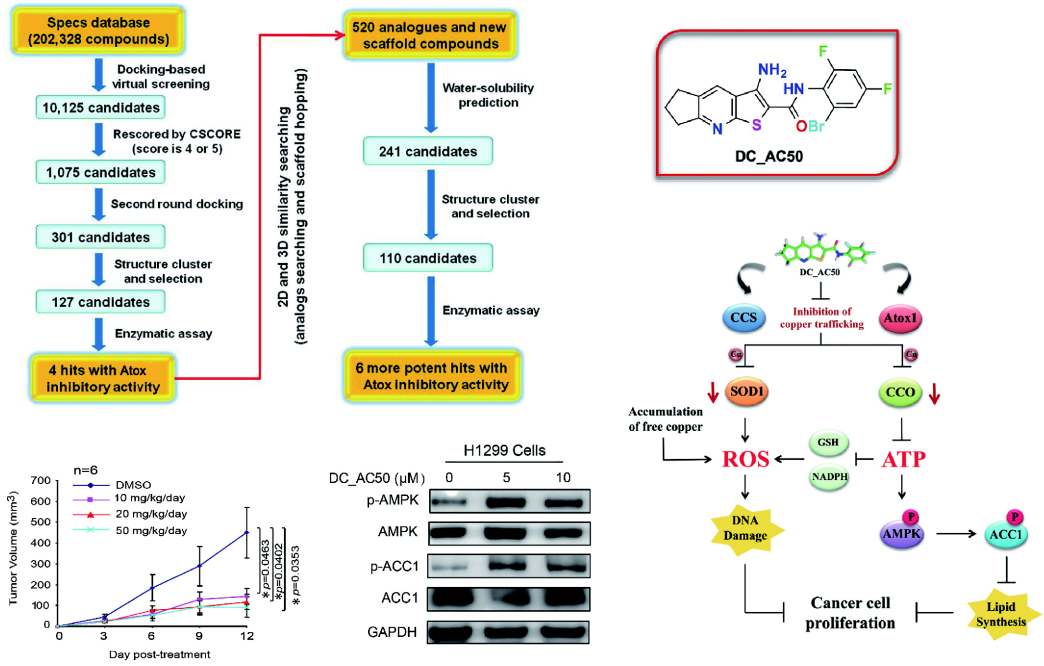


图8　靶向铜伴侣蛋白的小分子抑制剂研究结果(网络版彩图)

Figure 8　Inhibition of human copper trafficking by a small molecule significantly attenuates cancer cell proliferation (color online).

中筛选出一个小分子化合物DC_AC50, 可以同时靶向铜伴侣蛋白Atox1和CCS, 破坏该铜伴侣蛋白与下游蛋白之间的相互作用, 进而阻断铜离子在肿瘤细胞内的转运, 提升肿瘤细胞内ROS水平, 降低ATP产生, 从而特异性地抑制肿瘤细胞增殖而不影响正常体细胞存活. 与传统的铜离子螯合剂相比, 靶向铜蛋白可以特异、精细地调节肿瘤细胞内铜离子的浓度和分布, 从而达到安全、低毒的治疗目的. 因此, 靶向于铜伴侣蛋白进而控制铜离子在细胞内的转运, 或许可以成为抗肿瘤药物研发的新策略(图8).

4　结论与展望

当下新药的研发已不满足于对已知靶点进行药物的改造, 而是瞄准更具挑战性的新靶点的发现. 而化学生物学可以通过小分子化合物作为探针对复杂生物体系中信号转导过程进行研究, 从而揭示生命过程的化学本质. 同时发现与疾病相关的重要标记物、药物作用靶标和先导化合物, 为新药开发提供了重要的先导化合物资源, 从而推动药物开发的源头创新. 本综述重点介绍了铜离子对于维持细胞的正常生理机能的重要作用以及目前针对铜离子/铜伴侣蛋白的小分子抑制剂的发展. 但是, 目前对于细菌、酵母和哺乳动物内铜离子转运机制的研究不尽详细, 特别是在肿瘤细胞内的转运机制研究严重匮乏. 因此进一步的研究方向应该结合化学生物学、遗传学、细胞生物学、生理学和化学等交叉学科优势, 深入探讨铜离子在肿瘤细胞内的转运机制, 包括细胞核、线粒体等重要细胞器的定位分析, 辅助因子的功能研究以及铜离子在肿瘤细胞内整体通路的完整绘制. 最终, 完整阐述铜离子/铜伴侣蛋白在肿瘤发生发展中的作用, 从而实现抗肿瘤治疗新靶点的发现和验证.

参考文献

1　Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. *Nat Chem Biol*, 2008, 4: 176–185

2　Inesi G. *IUBMB Life*, 2016, 69: 211–217

3 Lutsenko S, Bhattacharjee A, Hubbard AL. *Metallomics*, 2010, 2: 596–608
4 Scheinberg IH, Sternlieb I. *Am J Clin Nutrit*, 1996, 63: 842S–845S
5 Zhong L, Wang L, Xu L, Liu Q, Jiang L, Zhi Y, Lu W, Zhou P. *Biometals*, 2015, 28: 113–122
6 Hordyjewska A, Popiołek Ł, Kocot J. *Biometals*, 2014, 27: 611–621
7 Robinson NJ, Winge DR. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 537–562
8 La Fontaine S, Mercer JFB. *Archiv Biochem Biophys*, 2007, 463: 149–167
9 Waldron KJ, Rutherford JC, Ford D, Robinson NJ. *Nature*, 2009, 460: 823–830
10 Puig S, Thiele DJ. *Curr Opin Chem Biol*, 2002, 6: 171–180
11 Maryon EB, Molloy SA, Zimnicka AM, Kaplan JH. *Biometals*, 2007, 20: 355–364
12 Maryon EB, Molloy SA, Ivy K, Yu H, Kaplan JH. *J Biol Chem*, 2013, 288: 18035–18046
13 De Feo CJ, Aller SG, Siluvai GS, Blackburn NJ, Unger VM. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 4237–4242
14 Kahra D, Kovermann M, Wittung-Stafshede P. *Biophys J*, 2016, 110: 95–102
15 Puig S, Lee J, Lau M, Thiele DJ. *J Biol Chem*, 2002, 277: 26021–26030
16 Maryon EB, Molloy SA, Kaplan JH. *Am J Phys-Cell Phys*, 2013, 304: C768–C779
17 Larson CA, Adams PL, Jandial DD, Blair BG, Safaei R, Howell SB. *Biochem Pharmcol*, 2010, 80: 448–454
18 Tsai CY, Liebig JK, Tsigelny IF, Howell SB. *Metallomics*, 2015, 7: 1477–1487
19 Bertinato J, Swist E, Plouffe LJ, Brooks SPJ, L'abbé MR. *Biochem J*, 2008, 409: 731–740
20 Rees EM, Thiele DJ. *J Biol Chem*, 2007, 282: 21629–21638
21 van den Berghe PVE, Folmer DE, Malingré HEM, van Beurden E, Klomp AEM, van de Sluis B, Merkx M, Berger R, Klomp LWJ. *Biochem J*, 2007, 407: 49–59
22 Lee J, Prohaska JR, Thiele DJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 6842–6847
23 Banci L, Bertini I, Chasapis CT, Rosato A, Tenori L. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 364: 645–649
24 Hatori Y, Lutsenko S. *Antioxidants*, 2016, 5: 25
25 Itoh S, Kim HW, Nakagawa O, Ozumi K, Lessner SM, Aoki H, Akram K, McKinney RD, Ushio-Fukai M, Fukai T. *J Biol Chem*, 2008, 283: 9157–9167
26 Muller PAJ, Klomp LWJ. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41: 1233–1236
27 Ozumi K, Sudhahar V, Kim HW, Chen GF, Kohno T, Finney L, Vogt S, McKinney RD, Ushio-Fukai M, Fukai T. *Hypertension*, 2012, 60: 476–486
28 Chen GF, Sudhahar V, Youn SW, Das A, Cho J, Kamiya T, Urao N, McKinney RD, Surenkhuu B, Hamakubo T, Iwanari H, Li S, Christman JW, Shantikumar S, Angelini GD, Emanueli C, Ushio-Fukai M, Fukai T. *Sci Rep*, 2015, 5: 14780
29 Das A, Sudhahar V, Chen GF, Kim HW, Youn SW, Finney L, Vogt S, Yang J, Kweon J, Surenkhuu B, Ushio-Fukai M, Fukai T. *Sci Rep*, 2016, 6: 33783
30 Schmidt PJ, Rae TD, Pufahl RA, Hamma T, Strain J, O'Halloran TV, Culotta VC. *J Biol Chem*, 1999, 274: 23719–23725
31 Furukawa Y, Torres AS, O'Halloran TV. *EMBO J*, 2004, 23: 2872–2881
32 Suzuki Y, Ali M, Fischer M, Riemer J. *Nat Commun*, 2013, 4: 2430
33 Son M, Puttaparthi K, Kawamata H, Rajendran B, Boyer PJ, Manfredi G, Elliott JL. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 6072–6077
34 Son M, Leary SC, Romain N, Pierrel F, Winge DR, Haller RG, Elliott JL. *J Biol Chem*, 2008, 283: 12267–12275
35 Cobine PA, Ojeda LD, Rigby KM, Winge DR. *J Biol Chem*, 2004, 279: 14447–14455
36 Kako K, Tsumori K, Ohmasa Y, Takahashi Y, Munekata E. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 6699–6707
37 Baker ZN, Cobine PA, Leary SC. *Metallomics*, 2017, 9: 1501–1512
38 Bode M, Woellhaf MW, Bohnert M, van der Laan M, Sommer F, Jung M, Zimmermann R, Schroda M, Herrmann JM. *Mol Biol Cell*, 2015, 26: 2385–2401
39 Remacle C, Coosemans N, Jans F, Hanikenne M, Motte P, Cardol P. *Plant Mol Biol*, 2010, 74: 223–233
40 Denoyer D, Masaldan S, La Fontaine S, Cater MA. *Metallomics*, 2015, 7: 1459–1476
41 Cosimo RD, Andrea S, Rosamaria L, Assunta P, Francesca SM, Paola DM, Francesca C, Rita CA, Vincenza D, Antonino B. *Oncotarget,* 2015, 6: 34158–34177

42 Blockhuys S, Wittung-Stafshede P. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 483: 301–304
43 Woo JS, Kim W, Ha SJ, Kim JB, Kim SJ, Kim WS, Seon HJ, Kim KS. *Arterioscler Thrombosis Vascul Biol*, 2013, 33: 2252–2260
44 Blockhuys S, Celauro E, Hildesjö C, Feizi A, Stål O, Fierro-González JC, Wittung-Stafshede P. *Metallomics*, 2016, 9: 112–123
45 Wan PTC, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, Project CG, Jones CM, Marshall CJ, Springer CJ, Barford D, Marais R. *Cell*, 2004, 116: 855–867
46 Brady DC, Crowe MS, Turski ML, Hobbs GA, Yao X, Chaikuad A, Knapp S, Xiao K, Campbell SL, Thiele DJ, Counter CM. *Nature*, 2014, 509: 492–496
47 Skrott Z, Mistrik M, Andersen KK, Friis S, Majera D, Gursky J, Ozdian T, Bartkova J, Turi Z, Moudry P, Kraus M, Michalova M, Vaclavkova J, Dzubak P, Vrobel I, Pouckova P, Sedlacek J, Miklovicova A, Kutt A, Li J, Mattova J, Driessen C, Dou QP, Olsen J, Hajduch M, Cvek B, Deshaies RJ, Bartek J. *Nature*, 2017, 10: 194–199
48 Wang J, Luo C, Shan C, You Q, Lu J, Elf S, Zhou Y, Wen Y, Vinkenborg JL, Fan J, Kang H, Lin R, Han D, Xie Y, Karpus J, Chen S, Ouyang S, Luan C, Zhang N, Ding H, Merkx M, Liu H, Chen J, Jiang H, He C. *Nat Chem*, 2015, 7: 968–979

Recent advances in copper chaperone and cancer

Meiqi Zhang, Lin Chen, Jing Wang*

State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Department of Chemical Biology, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China
**Corresponding author (email: wangjingsioc@bjmu.edu.cn)*

Abstract: Copper is a redox-active transition metal essential for most living organisms and serves as a catalytic cofactor for enzymes that function in antioxidant defence, iron homeostasis, cellular respiration and a variety of biochemical processes. However, intracellular free copper must be strictly limited because of its potential toxic side effects. Copper dyshomeostasis is involved in the pathogenesis and progression of diseases including cancer and neurodegenerative diseases. The uncontrolled accumulation of copper could lead to increased oxidative stress and inappropriate binding to macromolecules. Most cells evolve complex systems of copper regulation and trafficking to satisfy the cellular copper requirements and simultaneously minimize the potential toxicity. This review presents the importance of copper transporter Ctr1, copper chaperone CCS, Atox1 and COX17 for the maintenance of copper ion balance in cells. Moreover, we discuss recent highlights in the development of copper chelators for the treatment of cancer. Finally, we introduce the development of small molecules that alter copper homeostasis by inhibiting copper chaperones.

Keywords: copper, copper chaperones Atox1, CCS and COX17, mechanism for copper regulation, cancer, targeted drugs

doi: 10.1360/N032018-00087