

铜稳态失调在肌萎缩侧索硬化 发病机制中的研究进展

张莹, 色瑶综述, 姜宏俭审校

摘要: 铜对维持细胞的正常代谢功能至关重要,参与细胞中多种生理过程,包括细胞呼吸、神经肽加工和铁运输等,维持铜稳态具有重要意义。在中枢神经系统中,铜稳态参与突触功能调节及髓鞘形成过程等,铜稳态失调与多种神经退行性疾病的发生密切相关,近年研究表明,铜转运ATP酶 α (ATP7A)突变后导致的铜稳态失调,可能导致了肌萎缩侧索硬化(ALS)的发生发展。本文通过综述铜稳态失调在ALS发病机制的研究进展,提出了维持铜稳态可能为ALS治疗提供新靶点的展望。

关键词: 肌萎缩侧索硬化; 铜稳态; 铜转运ATP酶 α

中图分类号:R741.02

文献标识码:A

Research advances in copper homeostasis disorder in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis ZHANG Ying, SHAI Yao, JIANG Hongquan. (Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract: Copper plays an important role in maintaining the normal metabolic function of cells and participates in a variety of physiological processes in cells, including cell respiration, neuropeptide processing, and iron transport, and therefore, it is of great significance to maintain copper homeostasis. In the central nervous system, copper homeostasis is involved in the regulation of synaptic function and the formation of myelin sheath, and copper homeostasis disorder is closely associated with the development of various neurodegenerative diseases. Recent studies have shown that copper homeostasis disorder caused by the mutation of ATPase copper transporting α may lead to the development and progression of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). This article reviews the research advances in copper homeostasis disorder in the pathogenesis of ALS and points out that maintaining copper homeostasis may provide a new target for the treatment of ALS.

Key words: Amyotrophic lateral sclerosis; Copper homeostasis; ATPase copper transporting α

铜作为人体所必需的微量元素,主要分布在肝脏、血液和脑组织中,并以亚铜离子(Cu^+)和铜离子(Cu^{2+})的形式分别参与细胞内多种生理功能,包括参与细胞呼吸、神经肽加工和铁运输等氧代谢、维持铁稳态、合成胶原蛋白等^[1,2];在中枢神经系统中,铜又对调节突触功能、参与髓鞘形成以及淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)运输等发挥作用^[3]。然而,细胞内过量的铜会导致自由基产生增多,引起蛋白质构象改变或使酶活性受损^[4]。因此,铜的稳态对于维持机体正常生命活动十分重要。研究表明,铜稳态是由铜转运ATP酶 α 、 β (ATP7A、ATP7B)、铜转运蛋白(copper transporter 1, CTR1)和多种胞质铜伴侣共同介导的^[1]。

铜稳态的失调已被证明参与了肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration, HD)、帕金森病(Parkinson disease, PD)等多种神经退行性疾病的发病过程^[5]。肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)也是一种神经退行性疾病,其病理特征为

上、下运动神经元的变性损害^[6]。ALS的发病机制尚不明确,近年来的研究主要集中在错误蛋白异常沉积、细胞器功能障碍、兴奋性氨基酸毒性等方面^[7]。目前有研究发现,细胞内铜的异常聚集,可能参与ALS疾病的发病机制,损害了运动神经元功能和形态^[8]。本文通过综述铜稳态失调在ALS发病机制的研究进展,提出了维持铜稳态可能为ALS治疗提供新靶点的展望。

1 细胞外的铜稳态

食物中的铜主要以 Cu^{2+} 的形式存在,被还原为 Cu^+ 后,在CTR1的作用下被肠道吸收,进入血液循

收稿日期:2023-09-10;修订日期:2023-12-11

基金项目:黑龙江省自然科学基金优秀青年项目(YQ2020H013);国家自然科学基金青年科学基金(81601102);黑龙江省博士后启动基金(LBH-Q19128);中国初级卫生保健基金会(2022HX034)

作者单位:(哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科,黑龙江 哈尔滨 150001)

通信作者:姜宏俭, E-mail: quan@hrbmu.edu.cn

环^[4,9]。在血液中,铜与铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CER)等转运蛋白相结合,经铜转运 ATP 酶 α (ATP7A)释放入门静脉循环,由此进入肝脏^[10]。储存在肝细胞中的铜可以被分配到相应组织,其中,ATP7A 起到促进铜通过血脑屏障进入脑实质的作用,而过量的铜主要在铜转运 ATP 酶 β (ATP7B)的作用下,被运输到胆汁进行排泄^[5,11]。因此,肝脏是人体内维持铜稳态的核心。

2 细胞内的铜稳态

铜在细胞内的流动过程复杂而又精妙,由铜伴侣蛋白及铜转运蛋白等共同介导^[12]。铜离子经 CTR1 转运进入细胞后,与铜伴侣蛋白结合,抗氧化剂 1 铜伴侣蛋白(antioxidant 1 copper chaperone, ATOX1)和细胞色素氧化酶 17(cytochrome-c oxidase 17, COX17),分别负责将铜离子转运至高尔基体和线粒体^[12]。此后,ATP7A/ATP7B、细胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase, CCO)等进一步发挥作用^[13]。

2.1 ATP7A 铜转运 ATP 酶 α (ATP7A),又名 Menkes 蛋白(MNK),是一种多跨膜蛋白,在该蛋白的氨基末端具有 6 个金属结合结构域(N-末端金属结合域, NMBD)^[12,14],可与 Cu^+ 进行结合,通过 ATP 水解释放的能量来完成铜的跨膜转运。*Atp7a* 为 X 染色体连锁基因,研究证明,该基因的缺陷会导致多种具有神经系统和神经肌肉症状的疾病,如门克斯病(Menkes disease, MD)、枕角综合征(occipital horn syndrom, OHS)、X 连锁远端脊肌萎缩症-3(SMAX3)等^[5,11]。

在细胞内,ATP7A 通常存在于反式高尔基体(trans-golgi network, TGN),在 TGN 中,ATP7A 将铜离子转运至铜酶,如成纤维细胞中的赖氨酸氧化酶中,发挥生物合成作用^[15];而当细胞内铜水平升高时,ATP7A 将铜从 TGN 中转运至质膜,剩余的铜离子在胞吐作用下被排出细胞,从而维持细胞内的铜稳态^[11]。

2.2 ATP7B 铜转运 ATP 酶 β (ATP7B)同样属于跨膜蛋白,与 ATP7A 结构相似,但研究表明,与 ATP7A 相比,ATP7B 的金属结构域对铜具有更高的亲和力^[16]。*Atp7b* 位于人第 13 号染色体,目前 *Atp7b* 突变相关研究主要以错义突变为主,肝豆状核变性由 *Atp7b* 基因突变引起^[17]。

在细胞内,ATP7B 与 ATP7A 虽然均定位于反式高尔基体,但 ATP7B 于肝细胞中高度表达,可以将过

量的铜离子转运进胆汁排泄,有助于维持铜稳态^[18]。

在同时表达以上两种铜转运蛋白的细胞中,ATP7A 和 ATP7B 的作用机制有所不同。研究表明,在极化细胞中,ATP7A 携带铜离子向基底膜转运,而 ATP7B 则将铜离子从顶膜排出^[11]。

2.3 CTR1 CTR1 作为一种高亲和力的铜跨膜转运蛋白,与 ATP7A/ATP7B 不同,其跨膜转运过程不依赖 ATP。CTR1 由 190 个氨基酸组成,N 端位于细胞外,C 端位于细胞内,以同源三聚体的形式存在于哺乳动物细胞的质膜上,形成了铜的运输通道,在铜转运过程中具有重要的作用^[19]。在人类中,CTR1 由 *SLC31A1* 基因编码,该基因位于人类染色体臂 9q32 上,由 5 个外显子组成^[20]。目前虽然并未明确 CTR1 表达异常会导致某种疾病,但研究表明,CTR1-/-小鼠在胚胎第 10.5 d 时即在子宫内死亡,CTR1 在胚胎发育及细胞代谢中具有重要作用^[19]。

在细胞内,CTR1 主要位于细胞膜,也可定位于细胞内囊泡。铜通过 CTR1 转运进细胞内,并通过胞质囊泡的运输增加胞内铜的水平^[21]。

此外,在细胞内存在着铜分子的伴侣蛋白,将铜运送到不同的细胞器,例如,COX17 可将 Cu 运输到线粒体外膜间隙的 CCO; ATOX1 将 Cu 运输到反式高尔基体^[13]。

3 铜稳态失调的致病机制

游离铜离子易与氧发生级联化学反应,从而导致氧自由基(ROS)的生成^[22]。研究表明,铜可通过如下几方面导致 ROS 的蓄积:(1)Cu 主要参与形成超氧化物歧化酶(SOD),SOD 对于清除 ROS 具有重要的作用,当铜稳态失调时,SOD 生成异常会导致 ROS 过量^[23];(2)细胞内铜含量过少会使 CCO 的活性降低,线粒体功能受损,从而导致 ROS 产生^[24]。总之,大量 ROS 蓄积,会引发氧化应激反应,脂质氧化、蛋白质变性等损伤随之发生,进而使细胞发生炎症反应甚至死亡。

4 肌萎缩侧索硬化中的铜稳态失调

ALS 是最常见的运动神经退行性疾病之一,发病率为 2/100 000,主要病理特征为上、下运动神经元的退行性损害,患者常表现为进行性肌肉无力萎缩、吞咽困难等。该病往往进展迅速,患者多数生存期短,最终可因累及呼吸肌导致的呼吸衰竭而死亡,平均病程只有 3~5 年^[25]。该病致残率高,死亡率高,发病机制尚不明确^[7]。铜稳态失调已被证明参与了

多种神经退行性疾病,如肝豆状核变性、门克斯病等的发病机制^[16, 26]。在ALS发病机制中,铜稳态是否发挥同样重要的作用,有待进一步探究。

4.1 铜/锌超氧化物歧化酶(SOD1) SOD1是细胞内一种主要的铜结合蛋白,存在于线粒体膜间隙和细胞质中,需要铜和锌作为辅助因子,调节细胞内铜的稳态。ALS分为家族性(FALS)和散发性(SALS),约1/5的FALS是由于SOD1基因突变引起的^[27]。研究证实,在表达突变SOD1(mSOD1)的ALS小鼠模型中,Cu水平降低可延长动物的寿命^[28]。因此,突变的SOD1的毒性可能源于铜稳态的破坏^[29, 30]。ATP7A铜转运ATP酶 α (ATP7A),如上文所述是一种多跨膜蛋白,在细胞内可与Cu⁺进行结合,通过ATP水解释放的能量来完成铜的跨膜转运^[15]。最近在Bakkar等^[31]的研究中,发现1例诊断为ALS的65岁男患,其ATP7A中含有M1311V突变体。ATP7A的M1311V突变会导致ATP7A的亚细胞分布和功能改变,影响铜在细胞中的转运,使细胞内铜异常聚集;通过该研究,也证明了ATP7A突变可使诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)衍生的运动神经元的树突复杂性、功能和活力降低^[31]。此外,有相关研究表明,编码铜转运ATP酶的*Atp7b*在ALS小鼠的脊髓中表达下调^[31],进一步证明铜稳态调节可作为ALS疾病的发病机制。

4.2 金属硫蛋白(metallothionein proteins, MTs) MTs是铜和锌结合蛋白,在细胞中参与广泛的生理作用,包括解毒、维持细胞内铜和锌的稳态、清除活性氧等^[32]。MTs存在多种亚型,其中MT1和MT2是神经胶质亚型,但MT3存在于神经元中^[33]。相关研究表明,在SOD1 G93A小鼠的脊髓中,MT1/2表达上调可以降低脂质过氧化物水平,证明MT1/2与氧化损伤相关^[34]。而Hashimoto等^[35]的研究,证明了MT3在脊髓运动神经元中的表达对ALS模型小鼠的运动神经元具有保护作用,延长了ALS模型小鼠的寿命。综上,MT1/2和MT3与ALS的病理机制密切相关。

此外,铜离子代谢结构域包含体1(copper metabolism MURR1 domain-containing 1, COMMD1)通过调控ATP7A和ATP7B的表达的方式可参与细胞内铜离子代谢过程^[36]。同时作为一种错误折叠蛋白质聚集的调节因子,COMMD1已被证明可以与ALS中突变的SOD1(mSOD1)相互作用,促进了mSOD1

复合体的形成^[36];而铜螯合剂如D-青霉胺、曲恩汀和四硫代钼酸盐的相关研究表明,铜螯合剂可使ALS小鼠脊髓中异常增加的铜离子浓度恢复到正常水平,延长SOD1 G93A小鼠的存活率^[37]。以上研究均证实了铜稳态在ALS发病机制中的重要作用。

5 小结

铜稳态对于中枢神经系统的正常发育具有十分重要的作用,人类大脑中铜含量约为全身的7%~10%。铜稳态失调已被证实会诱发多种神经退行性疾病^[12]。ALS作为神经退行性疾病的一种,发病机制尚不明确。在铜死亡相关研究飞速发展的今天,铜稳态及相关通路的调节机制正处于不断完善的阶段,铜稳态与ALS的相关研究,为ALS的发病机制研究提供了崭新思路,并证实了通过不同靶点维持铜稳态,可能具有治疗运动神经元疾病的潜力,但仍需进一步的探究。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 张莹负责文献收集、撰写论文;色瑶负责论文修改;姜宏佳负责拟定写作思路、指导撰写论文并最后定稿。

[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.
- [2] Hartwig C, Zlatić SA, Wallin M, et al. Trafficking mechanisms of P-type ATPase copper transporters [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2019, 59: 24-33.
- [3] Bakkar N, Starr A, Rabichow BE, et al. The M1311V variant of ATP7A is associated with impaired trafficking and copper homeostasis in models of motor neuron disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 149: 105228.
- [4] Gromadzka G, Tarnacka B, Flaga A, et al. Copper dyshomeostasis in neurodegenerative diseases-therapeutic implications [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 9259.
- [5] Lutsenko S, Barnes NL, Bartee MY, et al. Function and regulation of human copper-transporting ATPases [J]. *Physiol Rev*, 2007, 87(3): 1011-1046.
- [6] van den Bos MAJ, Geevasinga N, Higashihara M, et al. Pathophysiology and diagnosis of ALS: insights from advances in neurophysiological techniques [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2818.
- [7] Mezzini R, Flynn LL, Pitout IL, et al. ALS genetics, mechanisms, and therapeutics: where are we now? [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1310.
- [8] Gil-Bea FJ, Aldanondo G, Lasa-Fernández H, et al. Insights into

- the mechanisms of copper dyshomeostasis in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2017, 19: e7.
- [9] 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*, 2020, 56(81): 12194-12197.
- [10] Pierson H, Yang H, Lutsenko S. Copper transport and disease: what can we learn from organoids? [J]. *Annu Rev Nutr*, 2019, 39: 75-94.
- [11] Kaler SG. ATP7A-related copper transport diseases-emerging concepts and future trends[J]. *Nat Rev Neurol*, 2011, 7(1): 15-29.
- [12] Chen J, Jiang Y, Shi H, et al. The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases[J]. *Pflugers Arch*, 2020, 472(10): 1415-1429.
- [13] Palumaa P. Copper chaperones. The concept of conformational control in the metabolism of copper [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(13): 1902-1910.
- [14] Tadini-Buoninsegni F, Smeazzetto S. Mechanisms of charge transfer in human copper ATPases ATP7A and ATP7B [J]. *IUBMB Life*, 2017, 69(4): 218-225.
- [15] La Fontaine S, Mercer JFB. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: role in copper homeostasis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 463(2): 149-167.
- [16] Barnes N, Tsvikovskii R, Tsvikovskaia N, et al. The copper-transporting ATPases, menkes and Wilson disease proteins, have distinct roles in adult and developing cerebellum [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(10): 9640-9645.
- [17] Collins CJ, Yi F, Dayuha R, et al. Direct measurement of ATP7B peptides is highly effective in the diagnosis of Wilson disease[J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(7): 2367-2382. e1.
- [18] Li YQ, Yin JY, Liu ZQ, et al. Copper efflux transporters ATP7A and ATP7B: novel biomarkers for platinum drug resistance and targets for therapy[J]. *IUBMB Life*, 2018, 70(3): 183-191.
- [19] Sharp PA. Ctr1 and its role in body copper homeostasis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, 35(3): 288-291.
- [20] Wee NKY, Weinstein DC, Fraser ST, et al. The mammalian copper transporters CTR1 and CTR2 and their roles in development and disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(5): 960-963.
- [21] Öhrvik H, Thiele DJ. The role of Ctr1 and Ctr2 in mammalian copper homeostasis and platinum-based chemotherapy [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2015, 31: 178-182.
- [22] An Y, Li S, Huang X, et al. The role of copper homeostasis in brain disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13850.
- [23] Qian Y, Zheng Y, Abraham L, et al. Differential profiles of copper-induced ROS generation in human neuroblastoma and astrocytoma cells [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, 134(2): 323-332.
- [24] Rossi L, Lombardo MF, Ciriolo MR, et al. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases associated with copper imbalance[J]. *Neurochem Res*, 2004, 29(3): 493-504.
- [25] Oskarsson B, Gendron TF, Staff NP. Amyotrophic lateral sclerosis: an update for 2018 [J]. *Mayo Clin Proc*, 2018, 93(11): 1617-1628.
- [26] Arnesano F, Natile G. Interference between copper transport systems and platinum drugs [J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 76: 173-188.
- [27] Abati E, Bresolin N, Comi G, et al. Silence superoxide dismutase 1 (SOD1): a promising therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24(4): 295-310.
- [28] Kiaei M, Bush AI, Morrison BM, et al. Genetically decreased spinal cord copper concentration prolongs life in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(36): 7945-7950.
- [29] Tokuda E, Furukawa Y. Copper homeostasis as a therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): 636.
- [30] Vonk WIM, Klomp LWJ. Role of transition metals in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 6): 1322-1328.
- [31] Olsen MK, Roberds SL, Ellerbrock BR, et al. Disease mechanisms revealed by transcription profiling in SOD1-G93A transgenic mouse spinal cord[J]. *Ann Neurol*, 2001, 50(6): 730-740.
- [32] Nakamura S, Shimazawa M, Hara H. Physiological roles of metallothioneins in central nervous system diseases [J]. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41(7): 1006-1013.
- [33] Zalewska M, Trefon J, Milnerowicz H. The role of metallothionein interactions with other proteins [J]. *Proteomics*, 2014, 14(11): 1343-1356.
- [34] Tokuda E, Ono SI, Ishige K, et al. Metallothionein proteins expression, copper and zinc concentrations, and lipid peroxidation level in a rodent model for amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Toxicology*, 2007, 229(1/2): 33-41.
- [35] Hashimoto K, Hayashi Y, Watabe K, et al. Metallothionein-III prevents neuronal death and prolongs life span in amyotrophic lateral sclerosis model mice [J]. *Neuroscience*, 2011, 189: 293-298.
- [36] Vonk WIM, Kakkar V, Bartuzi P, et al. The Copper Metabolism MURR1 domain protein 1 (COMMD1) modulates the aggregation of misfolded protein species in a client-specific manner[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e92408.
- [37] Andreassen OA, Dedeoglu A, Friedlich A, et al. Effects of an inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase, desmethylselegiline, trientine, and lipoic acid in transgenic ALS mice [J]. *Exp Neurol*, 2001, 168(2): 419-424.

引证本文:张莹,色瑶,姜宏俊.铜稳态失调在肌萎缩侧索硬化发病机制中的研究进展[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2024, 41(4): 381-384.