

## ◇医学基础与药学研究◇

## 细胞内铜转运系统的研究进展(综述)

王超旻<sup>1,2</sup> 程楠<sup>2</sup> 韩咏竹<sup>2</sup> 胡文彬<sup>2</sup>

【中图分类号】 Q581 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-8054(2013)03-0078-03

**【摘要】** 铜是人体必需的营养元素,参与体内许多重要的生化反应。细胞内多种铜转运蛋白和伴侣蛋白参与了铜离子的吸收、转运和清除,形成了一个复杂的铜转运系统。铜转运系统中的铜转运蛋白和/或伴侣蛋白功能异常与多种疾病的发生、发展关系密切。近年来,铜代谢障碍相关疾病越来越受到人们的重视,对铜转运系统相关蛋白的研究也不断深入。

**【关键词】** 铜转运系统 铜伴侣蛋白 Wilson病 Menkes病

铜(copper,Cu)是人体必需的一种金属微量元素,作为Cu/Zn超氧化物歧化酶(Cu,Zn-superoxide dismutase,SOD1)、铜蓝蛋白(ceruloplasmin,CP)、酪氨酸酶、多巴胺β-羟化酶等关键代谢酶的辅助因子,参与细胞内生物氧化、铁代谢、神经递质合成、自由基清除等过程,对维持人体正常的生理功能不可或缺<sup>[1-2]</sup>。各种原因导致的体内铜过量蓄积或缺乏与许多疾病的发生、发展有密切关系。由于铜在体内的代谢涉及到吸收、转运、利用、贮存及清除等诸多环节,其具体机制至今尚未完全阐明。近年来,随着铜转运P型ATP酶(ATP7A/ATP7B)以及各种铜伴侣蛋白(copper chaperones)功能研究的不断深入,人们认识到人体细胞内存在一个复杂的铜转运系统来维持铜的动态平衡。现将细胞内铜转运系统的研究进展综述如下。

### 1 细胞内铜的转运过程

人体每日从食物和饮水中摄入约0.6~2.0mg铜,其主要在小肠上皮细胞刷状缘由细胞膜上高亲和力和转运体—铜离子转运体1(hCTR1)<sup>[3]</sup>、二价金属离子转运体(DMT1)等载体介导进入肠黏膜细胞,然后由铜转运蛋白ATP7A从肠黏膜细胞跨膜转运至门静脉血循环<sup>[4]</sup>。其中,hCTR1和DMT1的转运是不依赖ATP的弥散过程,而ATP7A的转运是磷酸化ATP酶介导的主动离子转运过程。进入门静脉血循环的铜离子大部分被肝细胞摄取,然后与超氧化物歧化酶铜伴侣蛋白(CCS)、细胞色素氧化酶17(COX17)和抗氧化蛋白1(ATOX1)等铜伴侣蛋白结合,分别被转运至胞浆、线粒体和高尔基复合体外侧网络(TGN)等部位,并参与胞浆中的SOD1、线粒体中的细胞色素氧化酶和TGN中的铜转运ATP7A/ATP7B酶等的酶促反应,维持机体的正常生理功能。其中,

位于TGN的ATP7B将铜离子与内质网中的前CP前体蛋白(Apo-CP)结合形成全铜蓝蛋白(Holo-CP)释放入血并循环至全身,被其他组织和细胞摄取和利用。当肝细胞内的铜含量增高时,ATP7B则重新定位至肝细胞胆管膜侧,通过跨膜转运将其由胆道随胆汁排泄<sup>[5]</sup>。

### 2 铜转运P型ATP酶(ATP7A/ATP7B)

ATP7A和ATP7B均是P型ATP酶家族进化高度保守的跨膜蛋白,二者的氨基酸序列大约有54%~65%的同源性,在与铜离子结合后激发ATP水解并将铜离子转运出细胞膜。目前认为其转运过程如下<sup>[6]</sup>:铜离子与CBDs结合后,ATP结合区蛋白构象改变,将ATP水解为ADP,使磷酸化区的丝氨酸被磷酸化,铜离子转位并被Tm6的CPC阳离子序列转运。当细胞内铜离子浓度升高时,ATP7A和ATP7B接受激酶介导的磷酸化作用,分别从TGN重新定位至基底膜和顶膜,以分泌小囊泡的形式将铜运出胞膜。

除了亚细胞定位的极性不同,二者的表达部位也不相同:ATP7A主要小肠表达,脑、肾、肺和肌肉等组织也可见表达,而在除肝脏不表达;ATP7B则主要在肝脏表达,除脑、肾、胎盘、胃肠道等组织内有少量表达外,其余组织均未见表达。究其原因,有人认为由于ATP7A的CBDs Cu1~Cu6分别由3个外显子编码,而ATP7B则由其最大的第2外显子单独编码,正是这种编码结构的差异导致其表达部位和铜离子转运功能不尽相同<sup>[7]</sup>。但近来有研究认为这种区别并不明显,在特定情况下二者在基底膜和顶膜均可出现表达<sup>[8]</sup>,其具体原因尚待进一步研究。

由于ATP7A和ATP7B为体内多种铜依赖性代谢酶提供酶促反应所需的铜离子,其功能异常可导致严重后果:MNKD患者因ATP7A基因突变导致ATP7A酶功能障碍,从而阻断肠道对铜的吸收,引起各种铜依赖酶的功能障碍,临床以进行性神经系统变性和结缔组织异常为特点;WD患者则由于ATP7B基因突变导致ATP7B酶功能缺陷,肝细胞内

作者单位:1.安徽中医学院 合肥 230038

2.安徽中医学院神经病学研究所附属医院 合肥 230061

基金项目:国家自然科学基金项目(项目编号:81072738)

2013-03-20 收稿,2013-05-03 修回

CP 合成和胆汁铜排泄障碍,引起血清 CP 水平减低和铜在肝脏、大脑基底节、角膜等组织脏器中的蓄积,患者表现为急慢性肝损伤、神经/精神症状、角膜 K-F 色素环等特征性临床表现<sup>[9]</sup>。

### 3 铜伴侣蛋白

3.1 CTR1 CTR 家族包括 CTR1 ~ CTR6, 其中 CTR1 可特异性地将细胞外的一价铜离子转运进入细胞内,是铜转运过程中最重要的运输工具,是铜进入细胞内进行代谢的前提条件。1997 年,Zhou 和 Gitschier 等<sup>[10]</sup>在 Ctr1 缺陷的酵母功能互补型实验中第一次发现 hCtr1 基因。该基因位于 9q31-q32,编码 190 个氨基酸残基,含有 3 个假定的跨膜螺旋区域。hCtr1 蛋白在 N- 末端有两个蛋氨酸富集的区域,这些蛋氨酸残基构成 MXXM 或 MXM 的特征序列,能够从细胞外的介质中结合铜离子,是具有铜离子特异性及高亲和性的铜离子转运体<sup>[11]</sup>。

Ctr1 的表达受细胞内的铜离子浓度的影响,低浓度下 Ctr1 的表达水平明显增高,在高浓度下其表达则受到抑制。Ctr1 基因敲除的小鼠胚胎成纤维细胞在铜摄取以及铜与铜酶的结合方面都存在障碍,器官和细胞发育中均存在缺陷,子代多在妊娠中期死亡,存活者则表现出脑组织中铜的缺乏,说明 Ctr1 是哺乳动物不可或缺的铜转运蛋白<sup>[12]</sup>。

3.2 ATOX1 ATOX1 是第一个被发现具有铜依赖性的金属伴侣蛋白,其基因(Atxl)定位于 5q32~5q33 之间,全长 502bp,编码 68 个氨基酸残基,N 末端含有一个保守 MXCXXC 铜离子结合区域(与 ATP7A 和 ATP7B 蛋白的 CBDs 区对应),从原核到灵长类动物的各种生物体内,具有高度同源性<sup>[3]</sup>。ATOX1 主要位于细胞质和细胞核内,与进入细胞内的铜离子结合,利用 ATP 水解提供能量,以剂量依赖和可饱和的方式将铜转运到 ATP7A 或 ATP7B 的氨基末端。

研究发现,Atxl 基因敲除的小鼠细胞中铜含量增加,铜依赖酶活性明显减低,其子代小鼠中有 45% 在断乳前死亡,其余表现为生长迟缓、皮肤松弛、先天眼缺陷、低色素化、惊厥等。有学者利用同步辐射 X 射线荧光成像方法,检测了小鼠 ATOX1 缺陷成纤维细胞内铜的分布,发现 ATOX1 不仅作为铜伴侣蛋白转运铜离子,也在细胞水平上调节铜的合理分布起着关键作用<sup>[14]</sup>。还有研究指出,ATOX1 可能是哺乳动物一种新的铜应答转录因子,提示 ATOX1 可能以一种新的方式参与体内铜含量的调节<sup>[13]</sup>。

3.3 其他铜伴侣蛋白 除了 CTR1 和 ATOX1 外,体内还有 CCS、COX17、MT 等铜伴侣蛋白参与铜的转运。CCS 是一种含 249 个氨基酸残基,把铜离子特异性地传递给 SOD1 的蛋白,能促进 SOD1 的歧化

作用,保护细胞免遭氧化自由基损害<sup>[15]</sup>;COX17 可将细胞内的铜离子运送至线粒体后装载入细胞色素氧化酶,提供线粒体进行氧化磷酸化和保护氧化应激反应所必需的铜;金属硫蛋白(metallothionein,MT)是一类广泛存在于生物体内的、低分子量、富含半胱氨酸的金属结合蛋白,其巯基能强烈螯合铜等金属,并将之排出体外。

此外,还有 COMMD1(MURR1)<sup>[16]</sup>、动力蛋白激活蛋白亚单位 62(dynactin subunit p62)和谷氧还蛋白(Glutaredoxin 1, GRX1)等铜依赖性调节蛋白参与、调节铜的转运过程,与铜转运 ATP7A、ATP7B 及各种铜伴侣蛋白一起组成了铜的细胞转运系统,共同维持着细胞内铜离子水平的稳定,以保证机体生理活动的正常进行。

微量元素铜在人体细胞内发挥重要生理功能,细胞内铜转运系统对于维持铜的稳态平衡、保证组织脏器的正常功能起到关键作用。尽管目前对铜转运系统还有很多环节不甚明了,但随着研究的深入,人们终将明确体内的铜转运机制并在此基础上提高各种铜转运障碍疾病的诊断和治疗水平。

### 参考文献

- 1 Amanda NB, Ujwal S, Svethlana L. Structural organization of human Cu - transporting ATPases: learning from building blocks [J]. Biol Inorg Chem, 2010,15(1): 47~59.
- 2 Lucia Banci, Ivano Bertini, Francesca Cantini, et al. Cellular copper distribution: a mechanistic systems biology approach [J]. Cell Mol Life Sci, 2010,67: 2563~2589.
- 3 Wu Z, Liu Q, Liang X, et al. Reactivity of platinum-based antitumor drugs towards a Met- and Histich 20mer peptide corresponding to the N-terminal domain of human copper transporter 1[J]. J Biol Inorg Chem, 2009, 14(8): 1313~1323.
- 4 Macreadie IG. Copper transport and Alzheimer's disease[J]. EUR Biophys J, 2008, 37: 295~300.
- 5 Lee JY, Kim YH, Kim TW, et al. New novel mutation of the ATP7B gene in a family with Wilson disease[J]. J Neurol Sci, 2012, 313(1/2):129~131.
- 6 Veldhuis NA, Gaeth AP, Pearson RB, et al.The multi-layered regulation of copper translocating P-type ATPases[J]. Biometals, 2009, 22(1):177~190.
- 7 Lutsenko S, Barnes NL, Bartee MY, et al. Function and regulation of human Copper-Transporting ATPases[J]. Physiol Rev, 2007, 87: 1011~1046.

(下转第 81 页)

了溶血,要用正确的方法处理它,使病人能得到正确的诊断。

### 参考文献

- 1 潘柏申.心脏损伤标志物的研究进展与心肌梗死诊断标准的修订 [J]. 临床检验杂志,2002,120(3):129~132.
- 2 吴国球,劳心珍,孙宏伟,等.人心肌钙蛋白 I 化学发光免疫分析方法的建立 [J]. 临床检验杂志,2004,22(5):323~327.

- 3 周建光,杨梅,刘兆川.心肌损伤早期标志物的特性及临床应用[J].当代医学:学术版,2008(1):43.
- 4 Newby LK, Goldman Bu, ohman EM. Troponin: an important prognostic maker and risk-stratification tool in non -ST -segment elevation acute coronary syndromes.J Am Coll Cardiol, 2003, 41(4):31~36.
- 5 牛利茹,毕亚丽,李金伟.血标本溶血对检验结果的影响及防范对策 [J]. 临床误诊误治,2005,18(9):691~692.

## Effect of sample hemolysis on Cardiac Troponin I results

Tongcheng People's Hospital, Tongcheng 231400, Anhui

WANG Xiang-lin

**Abstract:***Objective:*To explore the effect of sample hemolysis on Cardiac Troponin I (cTnI) results. *Methods:*To detect troponin I of samples with and without hemolysis in the same patients select randomly thirty outpatients in the Tongcheng People's Hospital. *Results:*Troponin I were increasing significantly after hemolysis ,which had statistical differences( $P<0.01$ ).It is significant influence effect of Troponin I after hemolysis.*Conclusions:*patients's sample should be collected carefully to avoid samples hemolysis .

**Key Words:**Sample hemolysis;Troponin I

(编审:徐元宏 施仲赋)

(上接第 79 页)

- 8 Fontaine SL, Mercer JFB. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: Role in copper homeostasis [J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 463:149~167.
- 9 Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W. Pathology, clinical features and treatments of congenital copper metabolic disorders-focus on neurologic aspects[J]. Brain Dev, 2011, 33(3): 243~251.
- 10 Zhou B, Gitschier J. hCTR1: a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast [J]. P Natl Acad Sci USA, 1997,94(14): 7481~7486.
- 11 Rubino JT, Riggs -Gelascvo P, Franz KJ. Methionine motifs of copper trans-port proteins provide general and flexible thioether-only binding sites for Cu (I)andAg (I)[J]. J Biol Inorg Chem, 2010, 15(7):1033~1049.

- 12 Van den Berghe PV, Klomp LW. Posttranslational regulation of copper transporters [J]. J Biol Inorg Chem, 2010, 15(1):37~46.
- 13 Muller PA, Klomp LW. ATOX1: a novel copper-responsive transcription factor in mammals?[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(6):1233~1236.
- 14 McRae R, Lai B , Fahrni CJ. Copper redistribution in Atox1-deficient mouse fibroblast cells [J]. J Biol Inorg Chem,2010,15:99~105.
- 15 Brady GF,Galbgan S,LIU X,et al.Regulation of the copper chaperone CCS by XIAP-mediated ubiquitination[J]. Mol Cell Biol, 2010, 30(8):1923~1936.
- 16 Weiss KH, Lozoya JC, Tuma S, et al. Copper-induced translocation of the Wilson disease protein ATP7B independent of Murr1/COMMD1 and Rab7[J]. Am J Pathol, 2008,173(6):1783~1794.

## Advances in Intracellular Copper Transport System

1. Anhui College of TCM, Hefei 230038, Anhui

2. Affiliated Hospital to Institute of Neurology Anhui College of TCM, Hefei 230061, Anhui

WANG Chao-min<sup>1,2</sup>, CHENG Nan<sup>2</sup>, HAN Yong-zhu<sup>2</sup>, et al

**Abstract:**Copper is an essential nutrient elements and it participates in many important biochemical reactions in the body. A variety of copper transport proteins and copper chaperone proteins take part in the absorption, transport and removal of copper ions, which forms a complex copper transport system. Many diseases were found to be closely related to dysfunction of copper transporter proteins or copper chaperone proteins in the copper transport system. In recent years, more attention is paid to the diseases associated with abnormal copper metabolism and more research is focused on the proteins which is related to copper transport system.

**Key Words:** Copper transport system; Copper chaperone; Wilson's disease; Menkes' disease

(编审:张善堂)