



· 论 著 ·

铜离子对肺癌细胞增殖的影响及相关基因的临床意义

吴 冉^{1,2}, 王桂珍², 程 昕^{2,3}, 周光彪²

1. 贵州大学医学院生物医学系, 贵州 贵阳 550025 ;
2. 国家癌症中心 / 中国医学科学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室, 北京 100021 ;
3. 哈佛医学院达纳 - 法伯癌症研究所癌症生物学系, 马萨诸塞州 波士顿 02215

[摘要] **背景与目的:** 破坏铜离子在体内的平衡可能会促进癌症的发生、发展。研究铜离子对肺癌细胞增殖的影响, 分析铜离子及铜伴侣蛋白编码基因在肺癌及正常肺组织中的表达差异及其临床意义。**方法:** 以肺癌细胞和肺正常细胞系为细胞模型, 通过细胞增殖实验检测铜离子对细胞增殖能力的影响, 通过蛋白质印迹法 (Western blot) 实验检测不同浓度铜离子溶液处理细胞后对细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) / 磷酸化ERK (phosphorylated ERK, p-ERK) 信号转导通路的影响。以烟草致癌物4-甲基亚硝铵-1-(3-吡啶基)-1-丁酮 [4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK] 诱发小鼠肺癌, 用电感耦合等离子体质谱仪 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 分析小鼠肺癌组织和正常肺组织中铜的含量差异。利用癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA)、Oncomine 和 Kaplan-Meier Plotter 网站等多种数据库分析铜伴侣蛋白超氧化物歧化酶 (copper chaperone for superoxide dismutase, CCS)、细胞色素C氧化酶铜伴侣蛋白17 (cytochrome C oxidase copper chaperone 17, COX17) 和抗氧化剂1铜伴侣蛋白 (antioxidant 1 copper chaperone, ATOX1) 的 mRNA 表达水平与肺癌患者预后的相关性。**结果:** 体外实验结果表明, 5 $\mu\text{mol/L}$ 的铜离子浓度能显著提高肺癌细胞的增殖能力, 且能诱导细胞内与细胞增殖相关的信号通路如 ERK 信号转导通路的激活。在 NNK 诱发的小鼠肺癌中, 肺癌组织中的铜含量显著高于肺正常组织。TCGA 和 Oncomine 等数据库分析结果表明, 铜伴侣蛋白编码基因 CCS、COX17 和 ATOX1 在肺癌组织中的表达水平比癌旁正常组织的表达水平显著增高, 其表达水平与肺癌患者的预后呈负相关。**结论:** 在一定浓度范围内, 铜离子能促进细胞增殖, 肺癌患者铜伴侣蛋白编码基因有可能用于判断患者临床疗效和评估预后。

[关键词] 铜离子; 铜伴侣蛋白编码基因; 肺癌; 细胞增殖

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.11.005

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2021)11-1072-09

The effects of copper ion on cell proliferation and the clinical significance of copper ion in lung cancer

WU Ran^{1,2}, WANG Guizhen², CHENG Xin^{2,3}, ZHOU Guangbiao² (1. Department of Biomedicine, Guizhou University School of Medicine, Guiyang 550025, Guizhou Province, China; 2. State Key Laboratory of Molecular Oncology, National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Beijing 100021, China; 3. Department of Cancer Biology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston 02215, Massachusetts, USA)

Correspondence to: ZHOU Guangbiao E-mail: gbzhou@cicams.ac.cn

[Abstract] **Background and purpose:** Destroying the balance of copper ions in the body may promote the occurrence and development of cancer. This study aimed to investigate the effects of copper ion on cell proliferation and elucidate the clinical significance of copper chaperone genes in lung cancer. **Methods:** The effects of copper ion on cell proliferation were determined by trypan blue exclusion experiment. Western blot assays were performed to test the effects of copper on the expressions of extracellular regulated protein kinase (ERK) and phosphorylated ERK (p-ERK). Tobacco carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) was used to induce lung cancer in mice, and the copper content in lung cancer tissues and normal lung tissues was detected by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Databases including The Cancer Genome Atlas (TCGA), Oncomine and the Kaplan-Meier Plotter website containing the microarray data of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC)

通信作者: 周光彪 E-mail: gbzhou@cicams.ac.cn

were used to analyze the correlation between the mRNA expression levels of copper chaperone for superoxide dismutase (CCS), cytochrome C oxidase copper chaperone (COX17) and antioxidant 1 copper chaperone (ATOX1) and the prognosis of lung cancer patients. **Results:** *In vitro* experimental results showed that copper ions at a concentration of 5 $\mu\text{mol/L}$ was able to significantly promote the proliferation of lung cancer cells and normal lung epithelia cells, and induced the activation of intracellular ERK signaling pathways. In the NNK-induced lung cancer mouse model, the concentration of copper ion was significantly higher in cancer tissues than in normal lung tissues. In TCGA and Oncomine databases, the expression levels of CCS, COX17 and ATOX1 were significantly higher in cancer tissues than in counterpart normal controls. The expression levels were inversely associated with prognosis of the patients. **Conclusion:** Under specific concentration range, copper ions can promote cell proliferation. The copper chaperone genes could potentially be used as biomarkers to predict the prognosis of lung cancer patients.

[Key words] Copper ion; Copper chaperones genes; Lung cancer; Cell proliferation

不同微量元素在生物体内发挥不同的生物学功能，并在一定程度上参与癌症的发生、发展^[1]。铜作为酪氨酸激酶及铜蓝蛋白等多种酶的关键辅助因子，在生物体的生长发育过程中发挥重要作用。有研究^[2]表明，铜是维持机体正常生物学功能的必需微量元素，具有氧化还原性质，能维持生物体内催化、氧化、细胞呼吸及各类生命活动。此外，也有研究^[3]指出，铜离子能调节肿瘤的氧化磷酸化和生长过程，可参与致癌信号转导通路BRAF转导和肿瘤发生^[4]，对生物体有一定的潜在毒性^[5]。因此，生物体的铜离子含量应该维持在一个相对稳定的状态，否则将会破坏生物体的内环境稳态，引起机体的应激反应，从而造成不必要的伤害。

研究表明，破坏铜离子在体内的平衡可能会促进癌症的发生、发展。由于铜离子在许多生物学过程中是重要的辅助因子，在不同的癌症表型中常会出现铜离子的身影，例如铜可以通过激活参与细胞生长和代谢的酶LOX、SPARC、MEK1和MEMO1来增强癌细胞转移的能力^[6]。饮食中铜和锌的摄入量与患肺癌风险相关^[7-8]。铜是多种金属酶活性必需的微量元素之一，血清中铜或铁含量较高的人，会增加死于癌症的风险^[9]。此外，研究发现，肺癌患者血清中铜离子含量比健康对照组高^[10-11]，且肺癌患者癌组织中的铜、钙、镁和锌含量也显著高于正常肺组织^[12-13]。但这些研究主要报道了患者血清或癌组织中的主要/微量元素含量的异常变化，而在细胞水平上研究铜离子浓度对细胞的增殖及信号转导通路影响的报道较少。肺癌是全世界最常见的癌症，每年有210万新发及180万死亡病例，在中国，肺癌也是

最常见的癌症，每年新发及死亡病例分别为78.7万及63.1万^[14-15]。本文以肺癌作为肿瘤模型，系统性研究铜离子浓度对细胞增殖的影响及其铜伴侣蛋白编码基因在肺癌发展和预后中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料

人肺癌细胞系A549和人正常肺上皮细胞系16HBE由国家癌症中心/中国医学科学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室传代培养，DMEM培养基、RPMI-1640培养基、0.25%胰酶及胎牛血清均购自美国Gibco公司，A/J小鼠购自上海南方模式生物科技股份有限公司，脱脂奶粉购自美国BD公司，抗细胞外调节蛋白激酶（extracellular regulated protein kinase, ERK）抗体、抗磷酸化ERK（phosphorylated ERK, p-ERK）抗体均购自美国CST公司，抗 β -actin抗体购自美国Sigma公司，化学发光液购自大连美仑生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞生长曲线实验

将A549细胞和16HBE细胞接种于6孔板中，每孔 0.8×10^5 个细胞。待细胞贴壁完全后，实验组用浓度为5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Cu^{2+} 溶液分别处理A549和16HBE细胞，对照组用等体积溶剂进行处理，分别于加药后24、48和72 h，用0.25%的胰酶消化细胞，台盼蓝染色后计数，每个实验重复3次后，用GraphPad Prism 7软件绘制生长曲线图。

1.2.2 蛋白样品的制备及蛋白质印迹法（Western blot）实验

将16HBE细胞接种于6孔板中，每孔 2×10^5

个细胞。待细胞贴壁后,将含不同浓度的铜离子溶液与细胞一起温育48 h后,弃去培养基,用预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)洗涤3次。然后将浓度为 $1 \times$ 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulphate, SDS)的上样缓冲液(每 3×10^5 个细胞加入100 μ L上样缓冲液)加入6孔板中,用预冷的细胞刮将细胞刮下,并转至Eppendorf试管中。将上述Eppendorf试管置于99 $^{\circ}$ C水浴锅煮12 min,每间隔3 min用涡旋仪振荡混匀1次,得到的蛋白样品用12 000 r/min离心1 min后取10 μ L的蛋白量进行SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE);湿转至NC膜上,在电压为110 V条件下转膜2 h。取出NC膜并放入提前配置好的含5%脱脂奶粉的 $1 \times$ 洗膜缓冲液(tris-buffered saline Tween, TBST)中,室温放置1~2 h,用一抗稀释液以1:1 000比例稀释抗p-ERK、抗ERK和抗 β -actin抗体,将上述封闭后的NC膜放入目的抗体溶液中,4 $^{\circ}$ C平板摇床温育过夜,第2天用TBST洗膜3次,每次10 min;再放入稀释好的带辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗中,常温温育1~2 h后,用TBST洗膜3次,每次5 min,用化学发光成像仪显影。

1.2.3 构建动物肺癌模型

4~5周龄雌性A/J小鼠在SPF级别动物房中饲养,对小鼠进行编号,待小鼠充分适应动物房无菌环境1周后开始给予烟草致癌物4-甲基亚硝酸铵-1-(3-吡啶基)-1-丁酮[4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK],来诱发小鼠产生肺癌。将A/J小鼠随机分为对照组和NNK组,每组10只。通过灌胃方式给予NNK组小鼠100 mg/kg的NNK,1周两次,连续5周。同时对对照组小鼠给予相同体积的溶剂。在灌胃结束后,通过颈椎脱臼法处死小鼠,并将小鼠的肺组织取出,放置-80 $^{\circ}$ C保存,以备后续实验。本研究的所有动物实验均按照中国医学科学院肿瘤医院动物管理与使用委员会批准的指南进行。

1.2.4 H-E染色

将40%的甲醛溶液固定、石蜡包埋的小鼠肺组织标本切成5 μ m厚的切片,通过二甲苯脱蜡和

不同浓度的乙醇对切片进行脱蜡处理。随后用苏木精染色5 min,用盐酸乙醇分化后,用伊红染液染色1~3 min;经过不同浓度梯度的乙醇与二甲苯彻底脱水透明后,用中性树胶封盖,在普通光镜下观察组织形态。

1.2.5 小鼠体内铜离子的检测

对小鼠肺组织样品进行称重,取200 mg肺癌组织及对应癌旁正常组织,液氮冷冻状态下研磨成粉末。将粉末在预冷的混合酸($\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4 = 1 : 1$)中过夜,并转移至5 mL去离子水中,随后用电感耦合等离子体质谱仪(inductively-coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)对铜离子浓度进行测定。

1.3 统计学处理

利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)和Oncomine等数据库分析铜伴侣蛋白超氧化物歧化酶(copper chaperone for superoxide dismutase, CCS)、细胞色素C氧化酶铜伴侣蛋白17(cytochrome C oxidase copper chaperone 17, COX17)和抗氧化剂1铜伴侣蛋白(antioxidant 1 copper chaperone, ATOX1)在患者中的表达情况,利用Kaplan-Meier Plotter网站分析上述基因表达水平与患者预后的关系。在GraphPad Prism 8软件中采用双尾Student's *t*检验对实验结果进行数据分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 铜离子促进细胞增殖

用浓度为5 μ mol/L的铜离子溶液处理人肺癌细胞A549,同时用等体积溶剂处理对照组细胞,并于第1、2和3天检测细胞的增殖情况。结果显示,相较于对照组,用含铜离子的溶液处理细胞后,细胞数目明显增加($P = 0.038 6$),说明铜离子能促进A549的增殖(图1A)。在正常人肺上皮细胞来源的16HBE细胞中,浓度为5 μ mol/L的铜离子也可促进细胞增殖,与对照组相比,差异有统计学意义($P = 0.031 4$,图1B)。上述结果表明铜离子可促进细胞增殖。

2.2 铜离子能提高细胞内ERK的磷酸化水平

ERK作为一类丝/苏氨酸蛋白激酶，是传递丝裂原信号的信号转导蛋白，也是多种生长因子的下游蛋白，能通过被磷酸化参与调节细胞的增殖、分化和存活等^[16]。本研究分析了铜离子对细胞内ERK信号通路的影响，用浓度为2.5、5.0和

10.0 $\mu\text{mol/L}$ 的铜离子溶液处理16HBE细胞，并于48 h后提取蛋白进行SDS-PAGE，通过Western blot检测p-ERK、ERK蛋白的表达情况。结果显示，随着铜离子浓度的升高，p-ERK蛋白的表达量也随之升高（图2A、2B），说明铜离子能在一定程度上诱导细胞内ERK的磷酸化，从而促进细胞增殖。

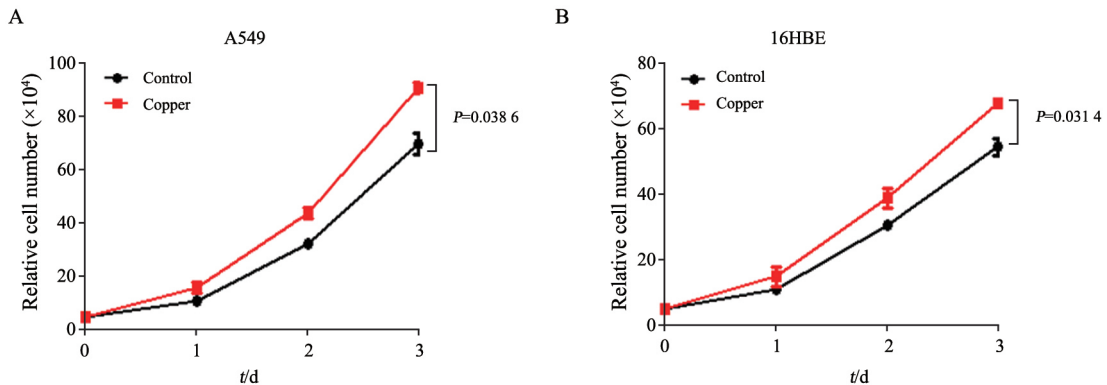


图1 铜离子促进A549和16HBE细胞增殖

Fig. 1 Copper ions promote the proliferation of A549 and 16HBE cells

A, B: A549 and 16HBE cells were treated with equal volumes of culture medium and copper ion solution at a concentration of 5 $\mu\text{mol/L}$. The cells were collected on day 1, 2 and 3 for trypan blue staining and counting, respectively. The growth curves were plotted

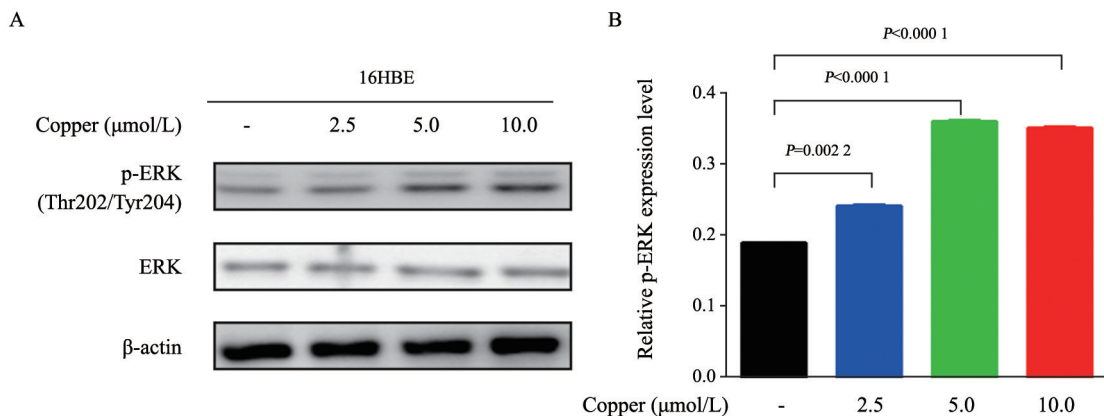


图2 铜离子对16HBE细胞内ERK的影响

Fig. 2 The effects of copper ions on ERK in 16HBE cells

The changes of p-ERK in 16HEB cells were detected by Western blot after treatment with different concentrations of copper ion solution for 48 h. A: The results of immunoblotting assay; B: The relative quantification of p-ERK by optical density measurement of Western blot protein bands normalized to β -actin

2.3 小鼠肺癌组织中铜离子的含量高于正常组织

将A/J小鼠在SPF级别的动物房中饲养并用耳号进行标记，随机分为两组。1周后通过对小鼠给予NNK建立小鼠肺癌模型。每周详细观察并记录小鼠的体重和状态，用小动物计算机断层显像仪（small animal computed tomography, micro-CT）

成像和对小鼠肺组织取材观测小鼠肺部肿瘤生长情况，并通过H-E染色鉴定肿瘤类型。实验结果显示，NNK可以诱发小鼠肺癌的产生（图3A）。进一步通过ICP-MS检测小鼠肺癌组织和正常肺组织的铜离子含量，结果表明，小鼠肺癌组织中的铜离子含量高于正常肺组织（图3B）。

2.4 铜伴侣蛋白编码基因在肺癌组织中高表达

研究发现, 铜离子进入细胞质后, 主要通过 *CCS*、*COX17* 和 *ATOX1* 等, 实现铜离子在不同细胞器中的运输, 进而发挥相应的生物学功能^[17]。因此, 本研究利用多种数据库, 进一步分析了铜伴侣蛋白编码基因在肺癌患者癌组织和正常组织中的表达差异。通过对TCGA数据库中肺癌患者数据进行分析发现, 在肺腺癌患者中, 肺癌组织中的 *CCS*、*COX17* 和 *ATOX1* 基因的mRNA表达水平显著高于正常肺组织 (图4A~4C)。此外, 通过对Oncomine基因芯片数据库进行分析发现, 在Garber、Stearman、Okayama、Su、Hou和Selamat数据中, 肺癌组织中的 *CCS* 基因的mRNA表达水平高于癌旁组织 (图4D); 在Garber、Okayama和Wachi数

据中, 肺癌组织中的 *COX17* 基因的mRNA表达水平也高于癌旁组织 (图4E); 在Garber、Okayama、Hou和Landi数据中, 肺癌组织中的 *ATOX1* 基因的mRNA表达水平也高于癌旁组织 (图4F)。

2.5 铜伴侣蛋白编码基因与患者预后的关系

为进一步研究铜伴侣蛋白编码基因 *CCS*、*COX17* 和 *ATOX1* 与肺癌患者预后的关系, 利用Kaplan-Meier Plotter网站对3个铜伴侣蛋白编码基因的表达水平与肺癌患者的预后进行了统计学分析。结果表明, 在肺腺癌患者中, 铜伴侣蛋白编码基因 *CCS*、*COX17* 和 *ATOX1* 的表达水平与患者的预后及生存呈负相关 (图5), 说明肺癌患者体内铜伴侣蛋白的表达水平可作为判断患者临床疗效和评估预后的依据。

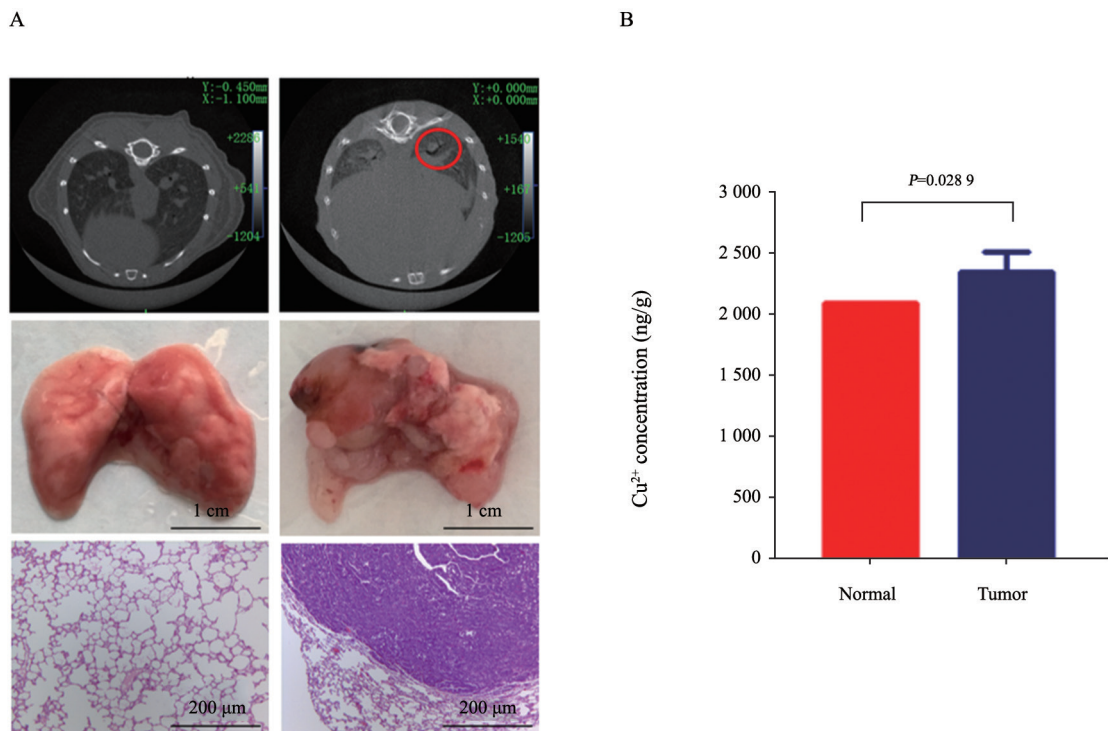


图3 小鼠肺癌组织中的铜离子含量高于正常肺组织

Fig. 3 Copper ion concentration was higher in mouse lung cancer tissues than in normal lung tissues

A: The mice were scanned by micro-CT (upper panel; tumors were circled in red) and the tumors were separated (middle panel), H-E staining was performed on the lung tissues of the mice (lower panel); B: The copper ion concentration in normal lung and cancer tissues of the mice, detected by ICP-MS

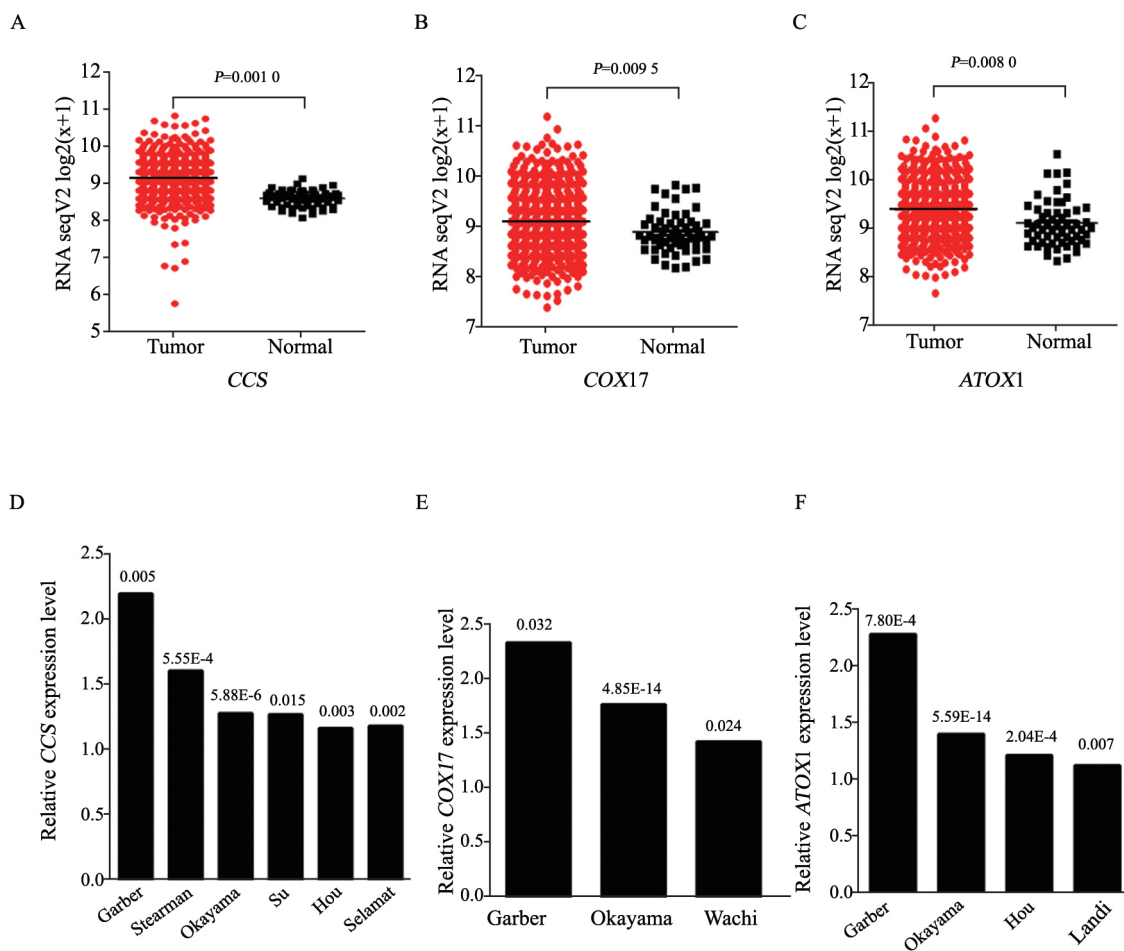


图4 铜伴侣蛋白编码基因*CCS*、*COX17*和*ATOX1*在肺癌患者癌组织中的表达水平显著高于正常肺组织

Fig. 4 The expression levels of copper chaperone protein-encoding genes *CCS*, *COX17* and *ATOX1* were significantly higher in cancer tissues than in normal lung tissues

A-C: The expression levels of *CCS*, *COX17* and *ATOX1* in lung adenocarcinoma tissues and normal lung tissues in TCGA database; D-F: The expression levels of *CCS*, *COX17* and *ATOX1* in lung cancer tissues and normal lung tissues in Oncomine microarray datasets

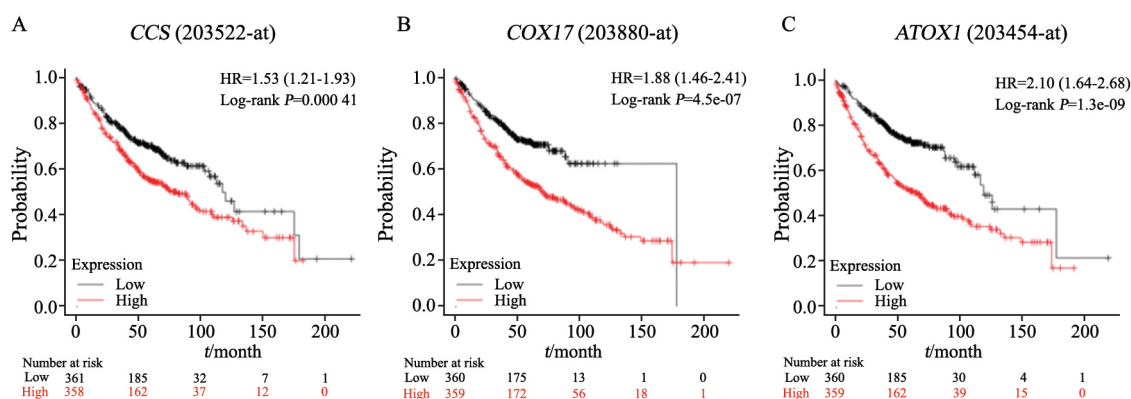


图5 铜伴侣蛋白编码基因的表达水平与肺癌患者的预后呈负相关

Fig. 5 The expression levels of copper chaperone protein-encoding genes were negatively correlated with prognosis of patients with lung adenocarcinoma

A-C: The Kaplan-Meier plotter website was used to analyze the correlation between the expression levels of copper chaperone protein-encoding genes *CCS*, *COX17* and *ATOX1* and the prognosis of patients with lung adenocarcinoma

3 讨 论

铜离子是人体生命活动所必需的一种重要微量元素。人体内铜离子的含量异常往往会引起一系列的疾病^[18]。本研究发现,铜离子可以诱导细胞内ERK磷酸化,从而促进肺癌细胞和正常细胞的增殖。有研究^[19]发现,培养羊的胰腺类器官时,铜离子能以ATOX1依赖的方式直接结合MEK,从而激活MEK-ERK信号转导通路,而小鼠细胞中铜离子转运蛋白1(copper transporter 1,CTR1)的缺失和突变都可降低MEK1磷酸化ERK的能力,说明MEK1-ERK相互作用需要铜离子的参与,而铜离子伴侣蛋白ATOX1和CTR1在铜离子与MEK的直接结合中均扮演重要角色。此外,二价铜离子可启动两种受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase,RTK)介导的下游信号转导通路,包括AKT和ERK^[20],说明铜离子还可能参与RTK的激活,从而导致ERK的磷酸化。

吸烟是引发肺癌的主要外因,吸烟者发生肺癌的风险是非吸烟者的20~30倍,且二手烟也会增加肺癌的发病风险^[21],吸烟可引起各种类型的肺癌^[22]。烟草燃烧产生的烟雾中有60多种已知的致癌物,包括多环芳烃类(如苯并芘)、苯、丙烯及亚硝胺类(如NNK)^[23]。这些致癌物一般先与DNA形成加合物,再直接或间接诱使抑癌基因如TP53突变失活或癌基因如KRAS突变激活^[23-25]。对亚硝胺类敏感的CYP2E1一般诱发肺腺癌^[26]。在Cu²⁺和NADPH的存在下,亚硝胺的代谢物NNK和NNN能够产生显著水平的DNA氧化,从而增加癌症发生的风险;同时,香烟烟雾中也含有大量的金属离子,其中也包括铜离子;电子烟中的铜离子含量甚至可以达到普通香烟的6倍,这进一步解释了肺癌组织中高浓度铜离子的来源^[27]。

在机体正常组织中,铜离子主要通过铜伴侣蛋白来实现在不同细胞器中的运输,进而发挥相应的生物学功能。目前,铜伴侣蛋白是肿瘤研究的热点。本研究发现,CCS、COX17和ATOX1在

人肺癌组织中的表达水平显著高于正常组织,且这些蛋白的表达水平与肺癌患者的预后和生存呈负相关,这在一定程度上说明高浓度的铜离子在肿瘤的发生、发展中起着重要作用。铜离子浓度与肿瘤的恶性程度显著相关,也预示着铜伴侣蛋白可作为判断患者临床疗效和评估预后的一项依据。ATOX1和CCS7都是铜离子发挥生物学功能不可或缺的蛋白,且二者与铜离子相结合的结构区域有一定的相似性。抑制剂DC_AC50可以通过结合ATOX1和CCS的铜转运界面,阻断铜离子在细胞内的转运,在裸鼠移植瘤模型中表现出显著的抑瘤效果^[28]。COX17与铜离子的作用方式则不同于ATOX1和CCS。COX17主要存在于细胞线粒体膜结构中,COX17与铜离子作用后可能通过调节肿瘤细胞的代谢从而影响肿瘤的发生、发展。也有研究^[29-30]发现,在小鼠和人类细胞环境中,MEK1铜离子结合区的突变会降低BRAFV600E突变驱动的信号转导和肿瘤发生,而铜离子螯合剂对这类突变型的肿瘤有着显著疗效,说明无论是通过螯合治疗降低铜离子的浓度,还是通过抑制剂抑制铜离子的转运,对肿瘤细胞都有着一定的抑制作用,减少铜离子对癌细胞内恶性通路的激活是十分有潜力的治疗方向。然而,由于铜离子本身是一种重要的必需微量元素,而目前大部分铜配体药物均是采取全身给药方式,不加甄别地实现全身铜耗竭,因此往往会导致一些不良反应,例如影响铜离子与血管生成素的结合及新生血管生成等,最终导致红斑、视神经炎、呕吐和白细胞减少等不良反应^[31]。因此,如何在开发靶向铜离子药物及给药系统的同时避免影响其正常的生理功能,将是未来研究的重点。

本研究发现,高浓度铜离子能诱导ERK磷酸化,并促进肿瘤细胞增殖,并探索了铜离子在肿瘤组织与正常组织中的浓度差异。ERK信号转导通路的激活除了与细胞的增殖和生存相关外,还可诱导机体产生炎症反应^[32-33]。因此,在今后的研究中,可以结合其可能的对人体免疫调节作用,综合研究铜离子促进肿瘤发生、发展的机制。此外,本研究表明,铜伴侣蛋白编码基因表

达水平与肺癌患者预后呈负相关, 因此可以通过抑制铜伴侣蛋白的作用, 减弱肿瘤细胞对铜离子的过量摄取和阻断铜离子参与的肿瘤发生、发展过程, 从而为肿瘤治疗提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] CHENG X, ZHOU Y C, ZHOU B, et al. Systematic analysis of concentrations of 52 elements in tumor and counterpart normal tissues of patients with non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(18): 7720–7727.
- [2] LI Y. Copper homeostasis: Emerging target for cancer treatment [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(9): 1900–1908.
- [3] ISHIDA S, ANDREUX P, POITRY-YAMATE C, et al. Bioavailable copper modulates oxidative phosphorylation and growth of tumors [J]. *PNAS*, 2013, 110(48): 19507–19512.
- [4] O'LEARY C G, ANDELKOVIC V, LADWA R, et al. Targeting BRAF mutations in non-small cell lung cancer [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2019, 8(6): 1119–1124.
- [5] ANTSOTEGI-USKOLA M, MARKINA-IÑARRAIRAEGUI A, UGALDE U. New insights into copper homeostasis in filamentous fungi [J]. *Int Microbiol*, 2020, 23(1): 65–73.
- [6] BLOCKHUYS S, ZHANG X, WITTUNG-STAFSHEDE P. Single-cell tracking demonstrates copper chaperone Atox1 to be required for breast cancer cell migration [J]. *PNAS*, 2020, 117(4): 2014–2019.
- [7] DENOYER D, CLATWORTHY S, CATER M A. Copper complexes in cancer therapy [J]. *Met Ions Life Sci*, 2018, 18.
- [8] MICHALCZYK K, CYMBALUK-PŁOSKA A. The role of zinc and copper in gynecological malignancies [J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3732.
- [9] SAYEHMIRI K, AZAMI M, MOHAMMADI Y, et al. The association between selenium and prostate cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(6): 1431–1437.
- [10] SHAKERI M T, NEZAMI H, NAKHAE S, et al. Assessing heavy metal burden among cigarette smokers and non-smoking individuals in Iran: cluster analysis and principal component analysis [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(11): 4036–4044.
- [11] MUECKE R, MICKE O, SCHOMBURG L, et al. Selenium in radiation oncology—15 years of experiences in Germany [J]. *Nutrients*, 2018, 10(4): 483.
- [12] ADACHI S, TAKEMOTO K, OHSHIMA S, et al. Metal concentrations in lung tissue of subjects suffering from lung cancer [J]. *Int Arch Occup Environ Heal*, 1991, 63(3): 193–197.
- [13] GUMULEC J, MASARIK M, ADAM V, et al. Serum and tissue zinc in epithelial malignancies: a meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99790.
- [14] BARTA J A, POWELL C A, WISNIVESKY J P. Global epidemiology of lung cancer [J]. *Ann Glob Heal*, 2019, 85(1): 8.
- [15] ZHU C, ZHUANG W, CHEN L, et al. Frontiers of ctDNA, targeted therapies, and immunotherapy in non-small cell lung cancer [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(1): 111–138.
- [16] LU J, LIU Q H, WANG F, et al. Exosomal miR-9 inhibits angiogenesis by targeting MDK and regulating PDK/AKT pathway in nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 147.
- [17] CHENG J, LUO Z, CHEN G H, et al. Identification of eight copper (Cu) uptake related genes from yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and their tissue expression and transcriptional responses to dietborne Cu exposure [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2017, 44: 256–265.
- [18] CERAMELLA J, MARICONDA A, IACOPETTA D, et al. From coins to cancer therapy: gold, silver and copper complexes targeting human topoisomerases [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30(3): 126905.
- [19] TURSKI M L, BRADY D C, KIM H J, et al. A novel role for copper in Ras/mitogen-activated protein kinase signaling [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(7): 1284–1295.
- [20] HE F, CHANG C, LIU B, et al. Copper (II) ions activate ligand-independent receptor tyrosine kinase (RTK) signaling pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 4158415.
- [21] HORI M, TANAKA H, WAKAI K, et al. Secondhand smoke exposure and risk of lung cancer in Japan: a systematic review and meta-analysis of epidemiologic studies [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2016, 46(10): 942–951.
- [22] KHUDER S A. Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: a meta-analysis [J]. *Lung Cancer*, 2001, 31(2/3): 139–148.
- [23] CORRALES L, ROSELL R, CARDONA A F, et al. Lung cancer in never smokers: the role of different risk factors other than tobacco smoking [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2020, 148: 102895.
- [24] CHASOV V, MIRGAYAZOVA R, ZMIEVSKAYA E, et al. Key players in the mutant p53 team: small molecules, gene editing, immunotherapy [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1460.
- [25] MANISALIDIS I, STAVROPOULOU E, STAVROPOULOS A, et al. Environmental and health impacts of air pollution: a review [J]. *Front Public Health*, 2020, 8: 14.
- [26] FAJERSZTAJN L, VERAS M, BARROZO L V, et al. Air pollution: a potentially modifiable risk factor for lung cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(9): 674–678.
- [27] LERNER C A, SUNDAR I K, WATSON R M, et al. Environmental health hazards of e-cigarettes and their components: oxidants and copper in e-cigarette aerosols [J]. *Environ Pollut*, 2015, 198: 100–107.
- [28] LE MARCHAND L, SIVARAMAN L, PIERCE L, et al. Associations of *CYP1A1*, *GSTM1*, and *CYP2E1* polymorphisms

- with lung cancer suggest cell type specificities to tobacco carcinogens [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(21): 4858-4863.
- [29] BRADY D C, CROWE M S, TURSKI M L, et al. Copper is required for oncogenic *BRAF* signalling and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2014, 509(7501): 492-496.
- [30] NAJAFI M, AHMADI A, MORTEZAEE K. Extracellular-signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase signaling as a target for cancer therapy: an updated review [J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(11): 1206-1222.
- [31] SUN T, ZHANG G, GUO Z, et al. Co-delivery of Cu(I) chelator and chemotherapeutics as a new strategy for tumor theranostic [J]. *J Control Release*, 2020, 321: 483-496.
- [32] YU Y, ZHANG Y, WANG S, et al. Inhibition effects of patchouli alcohol against influenza A virus through targeting cellular PI3K/Akt and ERK/MAPK signaling pathways [J]. *Virology*, 2019, 16(1): 163.
- [33] GUO Y J, PAN W W, LIU S B, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1997-2007.
- (收稿日期: 2021-06-15 修回日期: 2021-09-28)

《中国癌症杂志》2021年征订启事

《中国癌症杂志》1991年创刊,是由中华人民共和国教育部主管、复旦大学附属肿瘤医院主办的全国性肿瘤类学术期刊。名誉主编为汤钊猷、曹世龙教授,主编为沈镇宙教授。其宗旨是“服务读者,成就作者”。

《中国癌症杂志》为中文核心期刊(《中文核心期刊要目总览(2020年版)》收录)、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊、“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊,并被国内多家大型数据库收录。国际上,《中国癌症杂志》目前被荷兰Scopus数据库、美国《化学文摘》(CA)、日本科学技术振兴机构数据库(JST)以及WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录。

《中国癌症杂志》主要报道国内外肿瘤学领域前沿的研究内容,包括肿瘤的临床医学、基础医学、流行病学等。开设栏目包括专家述评与论著、论著、综述、论著选登、个案报道、指南与共识等。

《中国癌症杂志》为月刊,A4开本,80页,铜版纸(随文彩图),每月30日出版,单价15元,全年180元。国际标准连续出版物号(ISSN)1007-3639,国内统一连续出版物号(CN)31-1727/R,邮发代号4-575,读者可在当地邮政局订阅。

联系地址:上海市东安路270号复旦大学附属肿瘤医院10号楼415室

邮 编:200032

电 话:021-64188274; 021-64175590-83574

网 址:www.china-oncology.com

电子邮箱:zgazzz@china-oncology.com

《中国癌症杂志》编辑部