

安徽医科大学学报
Acta Universitatis Medicinalis Anhui
ISSN 1000-1492,CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：弓形虫干扰小鼠肾脏铜代谢途径初探
作者：杨俊，任传铭，刘敏，王坤亭，陈鹤，蔡亦红
收稿日期：2025-11-10
网络首发日期：2025-11-18
引用格式：杨俊，任传铭，刘敏，王坤亭，陈鹤，蔡亦红. 弓形虫干扰小鼠肾脏铜代谢途径初探[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20251118.1039.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

弓形虫干扰小鼠肾脏铜代谢途径初探

杨俊^{1,2,3}, 任传铭^{2,4}, 刘敏^{1,2,3}, 王坤亭^{2,4}, 陈鹤⁵, 蔡亦红^{1,3}

(¹首都医科大学基础医学院病原生物学系寄生虫学教研室, 北京 100069; ²安徽医科大学公共卫生学院卫生检验与检疫学系, 合肥 230032; ³动物源性传染病安徽省重点实验室, 合肥 230032; ⁴安徽医科大学第二临床医学院, 合肥 230032; ⁵安徽医科大学第一附属医院检验科, 合肥 230022)

摘要 目的 探讨弓形虫感染对小鼠肾脏铜代谢的影响。方法 将 80 只 7~8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠适应饲养 1 周后根据实验方案随机均分为 4 组: Control 组、Cu 组、TgCtwh6 组和 Cu+TgCtwh6 组。Control 组用普通正常饲料和水喂养; Cu 组连续 60 d 使用含氯化铜 1 g/kg 加工饲料和 0.1% 氯化铜的水饲养; TgCtwh6 组感染 25~30 个我国弓形虫 Chinese 1 优势基因型 TgCtwh6 虫株包裹, 用正常饲料和水喂养; Cu+TgCtwh6 组感染 25~30 个 TgCtwh6 包裹并且连续 60 d 使用含氯化铜 1 g/kg 加工饲料和 0.1% 氯化铜的水饲养。电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定肾脏组织铜含量变化; 采用苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠肾脏组织病理变化; 采用 PI 染色法观察凋亡细胞数量; 采用 Western blot 检测谷胱甘肽过氧化物酶 4(Glutathione Peroxidase 4, GPX4) 和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD1, SOD2)蛋白表达水平; RT-qPCR 法检测铜死亡相关基因 mRNA 表达。结果 镜下 Cu 组和 TgCtwh6 组可见肾间质炎性细胞浸润等病理表现, Cu+TgCtwh6 组肾间质炎性浸润细胞减少, 肾小球肾小管结构病理表现有所改善; Cu+TgCtwh6 组凋亡细胞数 (88.36±19) 低于 Cu 组 (119.0±20); 和 Cu 组相比, Cu+TgCtwh6 组 SOD1 蛋白表达下调, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); RT-qPCR 结果显示 TgCtwh6 感染可逆转铜超载引起的肾脏 GLS 表达下调和 ATP7B 表达上调。**结论** 弓形虫感染后可干扰小鼠肾脏内铜代谢途径, 改善铜超载造成的肾脏损伤, 为铜超载疾病的治疗提供新线索。

关键词 弓形虫; 肾脏; 铜代谢; 蛋白质免疫印迹; 凋亡; 电感耦合等离子体-质谱法

中图分类号 R382.5

文献标志码 A

2025-11-10 接收

基金项目: 安徽医科大学基础和临床合作研究计划项目(编号: 2021xkjT033); 动物源性传染病安徽省重点实验室开放课题项目(编号: BY-2022Z10); 出生人口健康教育部重点实验室开放课题项目(编号: JK20216)

作者简介: 杨俊, 男, 硕士研究生;

蔡亦红, 女, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail:yihongcai2022@yahoo.com

A Preliminary Study on *Toxoplasma gondii* Interfering with Copper Metabolism Pathways in Mouse Kidney

Yang Jun^{1,2,3}, Ren Chuanming^{2,4}, Liu Min^{1,2,3}, Wang Kunting^{2,4}, Chen He⁵, Cai Yihong^{1,3}

(¹Dept of Parasitology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069; ²Dept of Health Inspection and Quarantine, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032; ³Anhui Province Key Laboratory of Zoonoses, Hefei 230032; ⁴The Second Academy of Clinical Medical, Anhui Medical University, Hefei 230032; ⁵Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effect of *Toxoplasma gondii* infection on copper metabolism in the kidneys of mice. **Methods** A total of 80 7-8-week-old C57BL/6 female mice were randomly divided into four groups of 20 mice in each group after one week of adaptation, including Control group, Cu group, TgCtwh6 group and Cu+TgCtwh6 group. Mice that were not infected and fed with normal diet and water were used as the Control group; Mice fed with 1 g/kg of copper chloride processing diet and 0.1% copper chloride water for 60 consecutive days were used as Cu group; Mice infected with 25-30 TgCtwh6 cysts (one of the predominant genotype Chinese 1 in China) fed with normal diet and water were used as the TgCtwh6 group; mice infected with 25-30 TgCtwh6 cysts and fed with a processed diet containing 1 g/kg of copper chloride and water with 0.1% copper chloride for 60 consecutive days were used as the Cu+TgCtwh6 group. ICP-MS was used to determine the changes in copper content in kidney tissues. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of mouse kidney tissue. The number of apoptotic cells was observed by PI staining. Western blotting was used to detect the protein expression levels of glutathione peroxidase 4 (GPX4) and superoxide dismutase (SOD1, SOD2). RT-qPCR was used to detect the mRNA expression of cuproptosis-related genes. **Results** Pathological manifestations such as inflammatory cell infiltration in the Cu group and TgCtwh6 group were seen under the microscope, and the inflammatory infiltrating cells of the renal interstitial were reduced in the Cu+TgCtwh6 group, and the pathological manifestations of glomerular tubular structure were improved. The number of apoptotic cells in the Cu+TgCtwh6 group (88.36 ± 19) was lower than that in the Cu group (119.0 ± 20). Compared with the Cu+TgCtwh6 group, the expression of SOD1 protein was down-regulated, and the difference was

statistically significant ($P<0.05$). TgCtwh6 infection could restore the down-regulation of renal GLS expression and the up-regulation of ATP7B expression caused by copper overload. **Conclusion** *Toxoplasma gondii* infection can interfere with the copper metabolism pathway in the kidney of mice, improve the kidney damage caused by copper overload, and provide new clues for the treatment of copper overload disease.

Kew Words *Toxoplasma gondii*; kidney; cuproptosis; Western blot; apoptosis; ICP-MS

Fund programs Basic and Clinical Collaborative Research Enhancement Project of Anhui Medical University (No.2021xkjT033); Open Project of Anhui Province Key Laboratory of Zoonoses (No.BY-2022Z10); Open Project of Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle (AHMU), MOE (No.JK20216)

Corresponding author Cai Yihong, E-mail: yihongcai2022@yahoo.com

寄生虫感染可以打破宿主体内微量元素的代谢平衡。作为寄生于细胞内的原生动物，弓形虫需要摄取宿主体内的微量元素来维持自身生存。课题组前期研究^[1]表明，弓形虫慢性感染导致小鼠肾脏组织中铜含量降低，这说明弓形虫入侵后机体铜代谢稳态被打破，并对宿主代谢造成一定影响。铜死亡（cuproptosis）是一种不同于现在已知的所有细胞死亡机制的新机制，通过铜直接与三羧酸循环（tricarboxylic acid cycle, TCA cycle）中的脂酰化组分结合进而导致脂酰化蛋白聚集和随后的铁硫簇蛋白丢失，引发蛋白质毒性应激和线粒体功能障碍，最终导致细胞死亡^[2]。近年来研究^[3]发现机体铜代谢失衡与神经退行性疾病、肝豆状核变性、多种肾脏疾病以及诸多癌症的发生密切相关。基于此，该研究利用 CuCl₂ 构建小鼠铜过载模型，并引入我国流行的弓形虫 Chinese1 型 TgCtwh6 株进行干预，旨在探究弓形虫感染对铜死亡代谢机制的作用，为揭示肾脏铜死亡的致病机制与治疗提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自无锡耐思生命科技有限公司；二甲苯；浓硝酸（HNO₃, 优级纯）和 30% 双氧水（30% H₂O₂, 分析纯）、异丙醇、氯仿购自国药集团化学试剂有限公司；Western blot 配胶主要试剂购自北京兰杰柯科技有限公司；TRIzol 试剂购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；鼠源辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase, HRP）标记的甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH；货号：

60004-1-Ig; 1:8 000) 单抗、兔源 SOD1 (货号: 67480-1-Ig; 1:1 000)、SOD2 (66474-1-Ig; 1:1 000) 单抗购于武汉三鹰生物技术有限公司; 兔源 GPX4 (货号: T56959; 1:1 000) 单抗购于艾比玛特医药科技(上海)有限公司。Clin-CP-QMS-I微量元素分析仪(北京毅新博创生物科技有限公司), 荧光显微镜(德国 LEICA 公司), 微量紫外分光光度计(美国赛默飞公司); 隔水式电热恒温培养箱(海跃进医疗器械厂), 电泳仪(上海天能生命科学有限公司), 化学发光成像仪(美国 Bio-Rad 公司), LightCycler®96 实时荧光定量 PCR 仪(瑞士罗氏公司)。

1.2 实验动物和虫株

7~8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠购自杭州子源实验动物科技有限公司(生产许可编号: SCXK2019-0004)。弓形虫 Chinese 1 优势基因型 TgCtwh6 株包囊由本实验室传代保种。动物实验均经安徽医科大学动物实验伦理委员会(LLSC: 20211187) 批准并按照《安徽医科大学实验动物使用和护理指南》的建议严格执行。

1.3 小鼠模型的构建

将 80 只 7~8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠适应饲养 1 周后根据实验方案随机分为 4 组, 每组 20 只, 分别为 Control 组、Cu 组、TgCtwh6 组和 Cu+TgCtwh6 组。Control 组未感染且用普通正常饲料和水喂养; Cu 组连续 60 d 使用含 CuCl₂ 1g/kg 加工饲料和 0.1% 氯化铜的水饲养; TgCtwh6 组第 0 天感染 25~30 个弓形虫包囊并用正常饲料和水喂养; Cu+TgCtwh6 组感染 25~30 个 TgCtwh6 包囊^[4]并且连续 60 d 使用含氯化铜 1g/kg 加工饲料和 0.1% 氯化铜的水饲养。所有小鼠在第 60 天取材用作后续实验分析。

1.4 电感耦合等离子体-质谱法(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 检测小鼠肾脏组织铜元素

各组小鼠肾脏组织用超纯水清洗 3 次, 滤纸吸干后称重, 用混合消化液(硝酸:过氧化氢=2:1)在电热消解仪中消解, 超纯水定容。用 Clin-ICP-QMS-I 微量元素分析仪测定并计算铜元素含量, 铜元素含量=CV/m, 其中 C 为样品中铜元素浓度, V 为样品定容体积, m 为样品质量。

1.5 苏木精-伊红(HE)染色

取各组小鼠肾脏组织置于 4% 多聚甲醛通用型组织固定液中固定 24 h, 用于石蜡包埋切片, 经 HE 染色后显微镜下观察肾脏病理性改变。

1.6 PI 染色观察细胞凋亡

按照 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒说明书操作, 对肾脏组织切片经脱蜡、复

水后滴加 5 μ L Annexin V-FITC 和 10 μ L PI 染色液进行染色，盖玻片封片，置于正置荧光显微镜下观察。

1.7 Western blot 检测

各组小鼠肾脏组织用 RIPA 裂解液提取蛋白，经 BCA 定量后加入 1/4 体积的 5 \times 蛋白上样缓冲液，金属浴 100 °C 煮 10 min。制成的蛋白质样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离后，用标准程序转移到硝酸纤维素膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 1.5 h，封闭完成后用 TBST 洗膜 3 次，每次 10 min。在 4 °C 条件下与 GPX4、SOD1、SOD2、GAPDH 一抗孵育过夜后，用 TBST 洗膜 3 次，每次 10 min。在室温条件下孵育二抗 1.5 h，TBST 洗膜 3 次，每次 10 min，最后凝胶成像仪成像。

1.8 qRT-PCR

采用 qRT-PCR 技术检测小鼠肾组织中金属调节转录因子 1 (metal regulatory transcription factor 1, MTF1)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 2A (cyclin dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A)、谷氨酰胺酶 (glutaminase, GLS)、ATP 酶铜转运 β (ATPase copper transporting beta gene, ATP7B) 基因的 mRNA 表达水平。引物由上海生工合成 (表 1)。TRIzol 法提取各组小鼠肾脏组织 RNA，使用微量紫外分光光度计测量 RNA 的浓度并逆转录成 cDNA 用于检测。10 μ L qRT-PCR 反应体系：2 \times SYBR Green Pro Taq HS Premix 5 μ L、cDNA 模板 1 μ L、Premix F 0.3 μ L、Premix R 0.3 μ L，无酶水补足至 10 μ L；反应条件：95 °C 10 min 预变性，95 °C 10 s, 60 °C 30 s，共 40 次循环。基于内参基因 GAPDH 分析 PCR 结果，并通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因相对表达水平。

表 1 qRT-PCR 反应引物序列

Tab.1 Primer sequences used in real-time PCR analysis

Gene	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
MTF1	ACACCTTCGCTGTAAATCAGGA	CTGCACGTCACACTCAAATGG
CDKN2A	CGCAGGTTCTGGTCAGTGT	TGTTCACGAAAGCCAGAGCG
GLS	CTACAGGATTGCGAACATCTGAT	ACACCATCTGACGTTGTCTGA
ATP7B	CATCAGTGACGCCATGACAG	TCATCCCGCAGAGCACACC
GAPDH	GGTTGTCTCCTGCGACTTCA	TGGTCCAGGGTTCTTACTCC

1.9 图像和数据分析

所有实验均独立重复 3 次。使用 image J 软件对 Western blotting 结果进行分析，使用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计学分析及作图，各组间比较使用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD(Least-significant difference)-t 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肾脏铜含量的 ICP-MS 检测结果

长期接触高铜饮食能够引起小鼠肾脏铜蓄积，ICP-MS 检测结果显示，Cu 组小鼠肾脏铜含量相较 Control 组增加 ($P<0.05$)，提示小鼠铜过载模型构建成功^[5]。TgCtwh6 感染组肾脏中的铜元素含量低于 Control 组，且差异有统计学意义 ($P<0.05$)，与 Cu 组相比，TgCtwh6+Cu 组铜元素含量下降 ($P<0.05$)。结果表明，TgCtWh6 感染可降低铜过载小鼠肾脏组织的铜水平。见图 1。

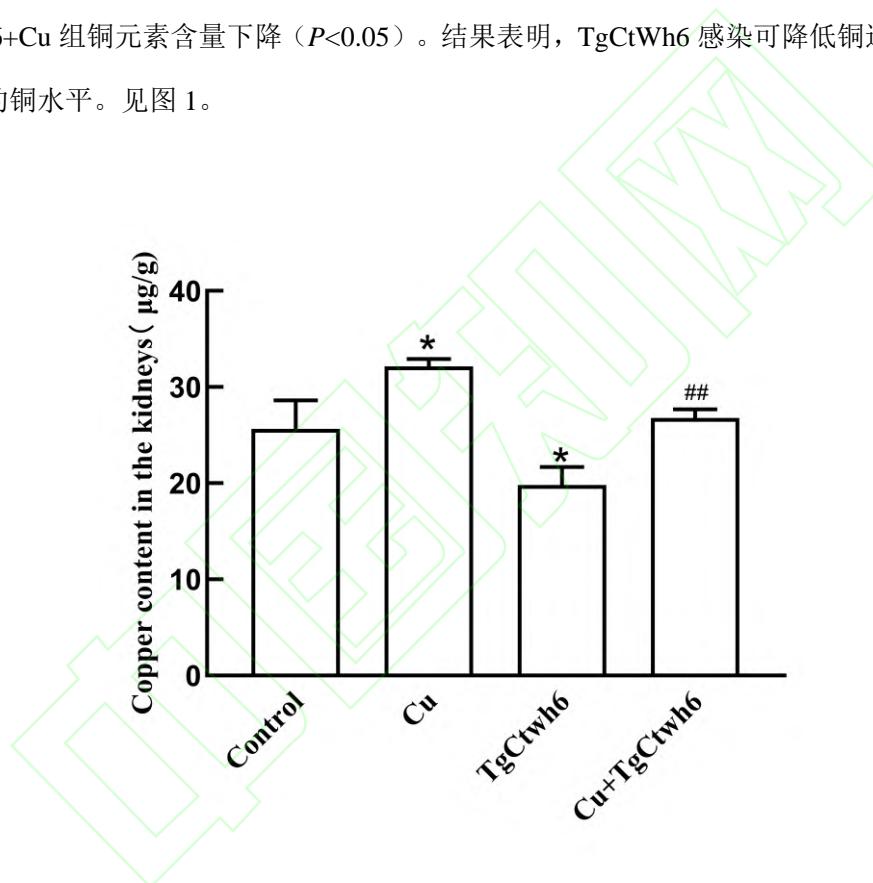


图 1 各组小鼠肾脏铜含量的比较

Fig.1 Comparison of kidney copper content in each group

注：* $P<0.05$ vs Control group; ** $P<0.01$ vs Cu group.

2.2 小鼠肾脏 HE 染色结果

对各组小鼠肾脏进行组织病理学检查，经 HE 染色后观察发现 Control 组小鼠的肾小管、肾小球形态结构无异，排列整齐。与 Control 组相比，Cu 组和 TgCtwh6 组小鼠可见组织局部肾间质炎性浸润，肾小球变形、肾小管损伤等病理表现；与 Cu 组相比，Cu + TgCtwh6 组小鼠肾脏炎性细胞明显减少，病理损伤有所改善。见图 2。

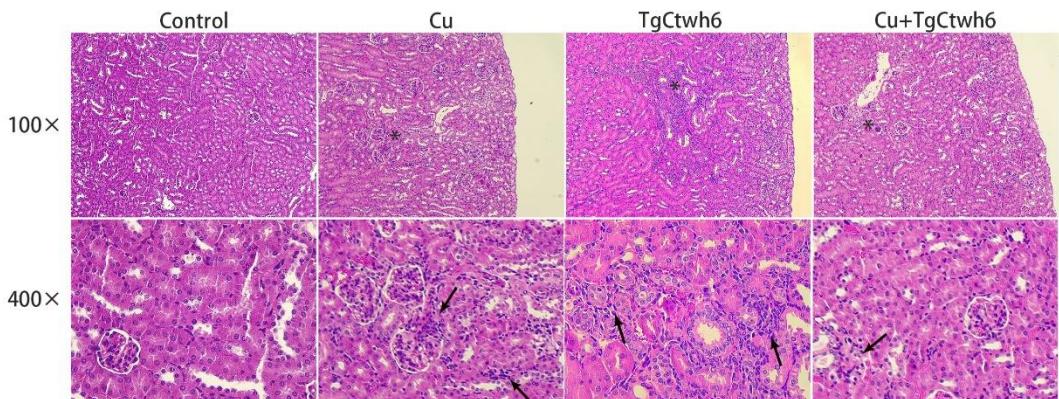


图 2 各组小鼠肾脏 HE 染色结果

Fig.2 HE staining results of the kidneys of mice in each group

注：black arrows: the occurrence of inflammatory cell infiltration in the renal interstitium.

2.3 PI 染色检测细胞凋亡数

组织中铜过载会通过氧化应激诱导细胞凋亡。对各组小鼠肾脏进行 PI 染色并在荧光显微镜下观察并计数细胞凋亡情况，结果显示，与 Control 组 (53.50 ± 2.6) 相比，Cu 组凋亡细胞数 (119.0 ± 20) 和 TgCtwh6 组 (78.57 ± 8.4) 增多 ($P < 0.05$)，而 Cu+TgCtwh6 组凋亡细胞数 (88.36 ± 19) 低于 Cu 组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)（见图 3、4）。结果表明弓形虫对肾脏过量铜的摄取会改善细胞凋亡情况。

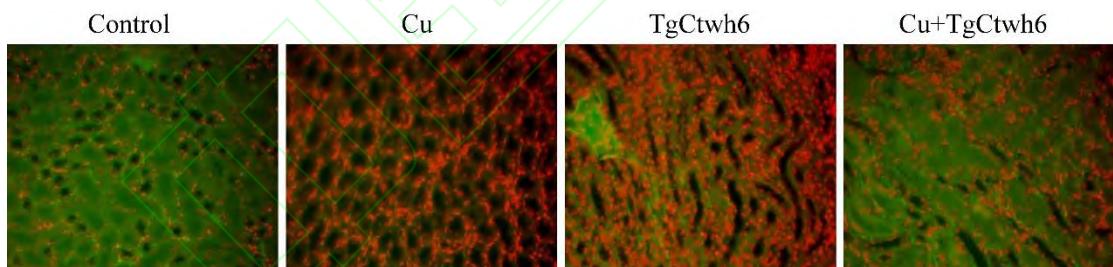


图 3 各组小鼠 PI 染色结果 $\times 200$

Fig.3 PI staining results in each group $\times 200$

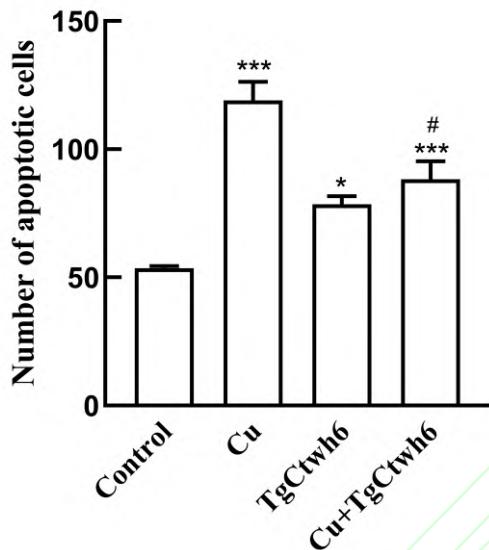


图 4 各组小鼠 PI 染色细胞凋亡数量

Fig.4 The number of apoptosis stained with PI in each group

注: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs Cu group

2.4 小鼠肾脏中铜代谢途径中关键蛋白的 Western blotting 结果

对各组小鼠肾脏氧化应激相关蛋白检测分析,结果显示,与 Control 组相比, Cu 组、TgCtwh6 组肾脏中的 SOD1 蛋白表达水平上升,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ;与 Cu 组相比, Cu+TgCtwh6 组 SOD1 蛋白表达下调 ($P < 0.05$) ;而 4 组之间 SOD2 表达无明显改变。与 Control 组相比, Cu 组和 TgCtwh6 组肾脏组织中 GPX4 蛋白的表达水平下调 ($P < 0.05$) ;而 Cu+TgCtwh6 组 GPX4 表达有所上调,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 。见图 5。

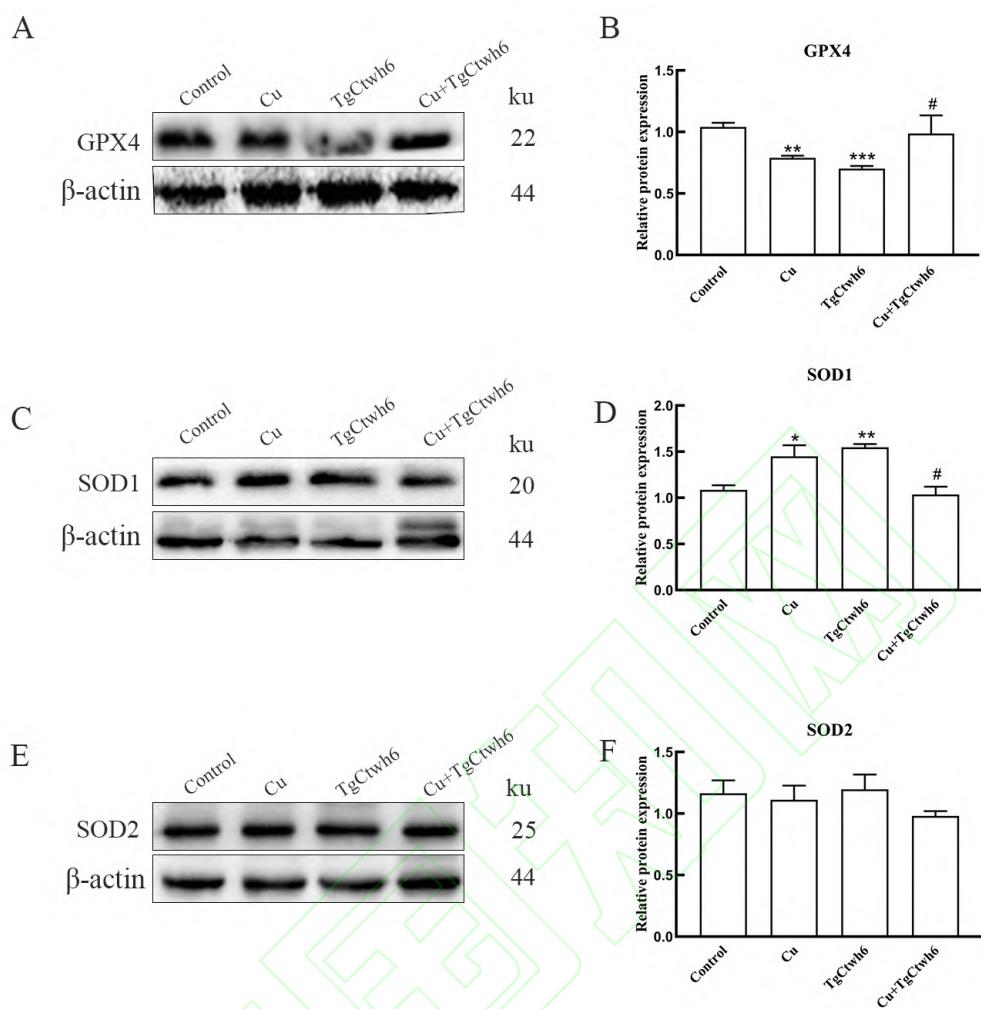


图 5 各组小鼠 SOD1、SOD2 和 GPX4 蛋白相对表达量的比较

Fig.5 Comparison of the expression of SOD1, SOD2 and GPX4 proteins in each group

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs Control group; # $P<0.05$ vs Cu group

2.5 小鼠肾脏铜死亡相关基因的 qRT-PCR 检测结果

通过 qRT-PCR 检测分析发现,与 Control 组相比,Cu 组和 TgCtwh6 组 MTF1、CDKN2A 基因的 mRNA 表达均显著下调 ($P<0.05$) ,但 Cu + TgCtwh6 组和 Cu 组之间差异无统计学意义。与 Control 组相比,Cu 组的 GLS 基因表达显著下调,但弓形虫感染后表达上调 ($P<0.05$)。与 Control 组相比,Cu 组和 TgCtwh6 组 ATP7B 的 mRNA 表达显著上调($P<0.05$),且 Cu + TgCtwh6 组与 Cu 组相比表达减少 ($P<0.05$) (图 6)。结果表明,弓形虫能够改善铜过载小鼠肾脏组织的 GLS、ATB7B 基因表达。

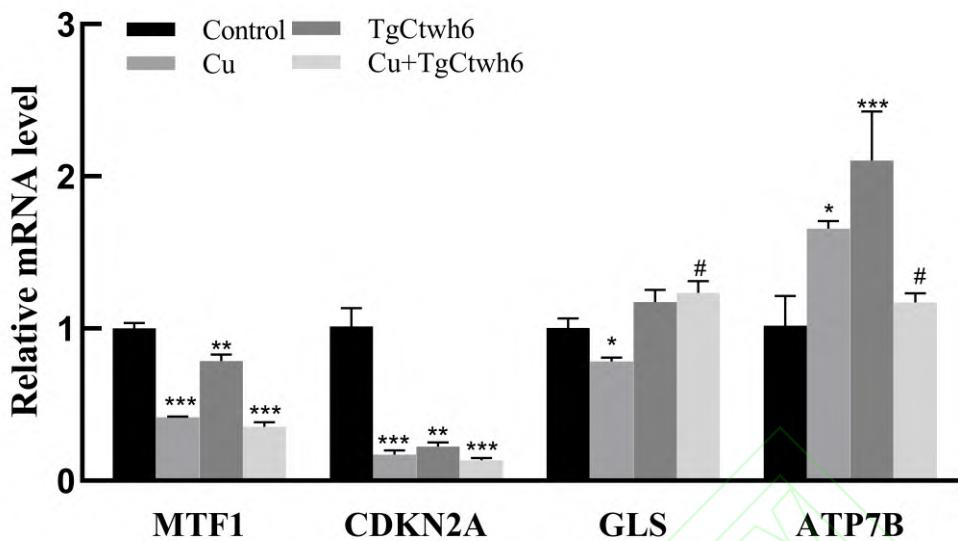


图 6 各组小鼠 MTF1、CDKN2A、GLS、ATP7B 的 mRNA 表达比较

Fig.6 Comparison of mRNA expression of MTF1, CDKN2A, GLS, and ATP7B in each group

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs Control group; # $P<0.05$ vs Cu group

3 讨论

弓形虫作为细胞内寄生原虫，其生存所需要的各种物质都来源于宿主细胞，而它这样的特性势必会打破宿主细胞的代谢平衡。课题组前期研究显示弓形虫感染小鼠后，宿主体内的多个组织内部金属稳态都发生了改变。金属离子平衡对于宿主-寄生虫相互作用的建立和维持至关重要。铜作为一种必需微量元素，参与诸多生物活动过程，其对于呼吸、去除自由基、产生能量、结缔组织发育、铁和氧的代谢、细胞外基质和神经肽的成熟以及神经内分泌信号传导都至关重要^[6]。

组织内发生铜超载会诱导细胞死亡，肾是铜超载的主要靶器官之一，高铜浸润在细胞层面会对肾组织造成不可逆的损伤，抑制肾细胞增殖，最终表现为病理组织学上的肾充血水肿、炎性细胞浸润和肾小管的萎缩^[7]。本研究表明，在小鼠铜超载模型构建成功后，TgCtwh6 感染能够缓解铜暴露导致的肾脏病理损伤和细胞凋亡。GPX4 是一种关键的抗过氧化物酶，其主要功能是利用谷胱甘肽作为辅助因子来降低脂质过氧化，从而保护细胞膜的完整性^[8]。有研究^[9]表明在铜死亡中铜诱导了 GPX4 的自噬降解加重细胞死亡。本研究中，铜超载模型鼠 GPX4 水平显著降低，但介入弓形虫感染后，其表达有所恢复。SOD 作为生物体内重要的抗氧化酶，在真核生物中分为 SOD1、SOD2 两种，二者区别在于中心的金属离子的不同，SOD1 中心为锌和铜离子，SOD2 为锰离子^[10]。本研究结果显示，模型鼠的 SOD1 蛋白表达改变，

而 SOD2 差异无显著性，这可能是 SOD 与不同的微量金属元素结合有关。SOD1 的表达与铜水平之间存在复杂的相互作用，铜可通过 MTF1 等调控 SOD1 的表达^[11]。此外，铜过量可通过氧化应激间接影响 SOD1 表达。弓形虫感染可激活宿主细胞的抗氧化防御系统，通过上调 SOD 的表达以应对氧化损伤^[12]。弓形虫和铜联合作用导致 SOD1 表达降低，是弓形虫与宿主相互作用的复杂结果，可能涉及到铜离子的竞争性摄取、信号通路协同抑制，具体机制有待探明。谷氨酰胺是一种重要的代谢燃料，通过氨基酸转运蛋白 ASCT2/SLC1A5 进入细胞，并在线粒体中被 GLS 催化的脱氨反应转化为谷氨酸。胞质谷氨酸在铜死亡过程中对维持氧化还原反应平衡非常关键，通过产生谷胱甘肽来避免细胞出现氧化应激^[13]。在有关肾透明细胞癌 (ccRCC) 的研究中发现在患者的肿瘤和正常组织之间的铜代谢相关基因表达存在差异，CDKN2A 的表达显著上升，而铁氧还蛋白 1 (ferredoxin 1, FDX1)，二氢脂酰胺 S-乙酰转移酶 (dihydrolipoamide S-acetyltransferase, DLAT)，硫辛酸合成酶 (lipoic acid synthetase, LIAS)，GLS 等则低于正常组织^[14]。铜主要通过铜转运蛋白 SLC31A1 进入细胞，并与胞质铜伴侣以及可能的其他可溶性蛋白结合。当细胞内铜超过生理水平时，ATP 酶铜转运 α (ATPase copper transporting alpha, ATP7A) 和 ATP 酶铜转运 β (ATPase copper transporting beta, ATP7B) 从反面高尔基体网络移动到囊泡中，隔离过量的铜并最终将其输出到细胞外^[15]。在本研究中，TgCtwh6 感染可恢复铜超载导致的小鼠肾脏 GLS 表达下调和 ATP7B 表达上调。初步推测弓形虫感染后可通过对铜死亡相关基因 (GLS、ATP7B) 的干预调节肾脏内铜代谢，可能与弓形虫对宿主体内过量铜的摄取或者分泌的致密颗粒蛋白 (dense granule proteins, GRAs) 和棒状体蛋白 (rhopty protein, ROPs) 等对相关通路的间接调控有关。其他如 FDX1、DLAT、LIAS 等本研究未涉及的铜死亡相关基因可能也参与其中，具体机制有待进一步研究。

综上所述，本研究利用铜超载小鼠模型，发现弓形虫感染能够上调肾脏组织 GLS 基因表达和下调 ATP7B 基因表达，改变宿主氧化应激状态，调节小鼠肾脏组织中的铜代谢。这为利用弓形虫通过干预铜代谢途径治疗如肿瘤等铜超载相关疾病提供了新的线索。

参考文献

- [1] 刘 敏, 高南南, 王 崇, 等. 去铁酮对弓形虫慢性感染小鼠肝损伤中铁代谢紊乱的治疗作用 [J]. 安徽医科大学学报 , 2023, 58(7): 1094-8.
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.006.

Liu M, Gao N N, Wang C, et al. Therapeutic effect of deferone on iron metabolism disorders in liver injury of chronic infected *Toxoplasma gondii*[J]. Acta Univ Med Anhui, 2023, 58(7): 1094-8.

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.006.

- [2] Gao L, Zhang A. Copper-instigated modulatory cell mortality mechanisms and progress in oncological treatment investigations[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1236063. doi:10.3389/fimmu.2023.1236063.
- [3] Chen L, Min J, Wang F. Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 378. doi:10.1038/s41392-022-01229-y.
- [4] 王 崇, 蔡亦红. 弓形虫 Chinese 1 基因型虫株感染对小鼠海马体细胞超微结构的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(10): 1564-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.10.010.
- Wang C, Cai Y H. Ultrastructural observations of hippocampal cells in mice infected with Chinese 1 dominant genotype strain of *Toxoplasma gondii*[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(10): 1564-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.10.010.
- [5] Pan M, Cheng Z W, Huang C G, et al. Long-term exposure to copper induces mitochondria-mediated apoptosis in mouse hearts[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 234: 113329. doi:10.1016/j.ecoenv.2022.113329.
- [6] Brewer G J. Copper in medicine[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, 7(2): 207-12. doi:10.1016/S1367-5931(03)00018-8.
- [7] Haywood S, Loughran M, Batt R M. Copper toxicosis and tolerance in the rat III. Intracellular localization of copper in the liver and kidney[J]. *Exp Mol Pathol*, 1985, 43(2): 209-19. doi:10.1016/0014-4800(85)90041-3.
- [8] Xie Y, Kang R, Klionsky D J, et al. GPX4 in cell death, autophagy, and disease[J]. *Autophagy*, 2023, 19(10): 2621-38. doi:10.1080/15548627.2023.2218764.
- [9] Xue Q, Yan D, Chen X, et al. Copper-dependent autophagic degradation of GPX4 drives ferroptosis[J]. *Autophagy*, 2023, 19(7): 1982-96. doi:10.1080/15548627.2023.2165323.
- [10] Qiao K, Fang C, Chen B, et al. Molecular characterization, purification, and antioxidant activity of recombinant superoxide dismutase from the Pacific abalone *Haliotis discus* Hannai Ino[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2020, 36(8): 115. doi:10.1007/s11274-020-02892-5.
- [11] Cuillel M, Chevallet M, Charbonnier P, et al. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(3): 1707-15. doi:10.1039/c3nr05041f.
- [12] Türkoğlu § A, Yaman K, Orallar H, et al. Acute toxoplasmosis and antioxidant levels in the

- liver, kidney and brain of rats[J]. Ann Parasitol, 2018, 64(3): 241-7. doi:10.17420/ap6403.159.
- [13] Scopelliti A J, Font J, Vandenberg R J, et al. Structural characterisation reveals insights into substrate recognition by the glutamine transporter ASCT2/SLC1A5[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 38. doi:10.1038/s41467-017-02444-w.
- [14] Bian Z, Fan R, Xie L. A novel cuproptosis-related prognostic gene signature and validation of differential expression in clear cell renal cell carcinoma[J]. Genes, 2022, 13(5): 851. doi:10.3390/genes13050851.
- [15] Lutsenko S, Roy S, Tsvetkov P. Mammalian copper homeostasis: physiological roles and molecular mechanisms[J]. Physiol Rev, 2025, 105(1): 441-91. doi:10.1152/physrev.00011.2024.