

·综述·

髓过氧化物酶相关疾病及其检测方法

刘彦平,金京一,郑明花

(延边大学化学生物医学研究中心,吉林 延吉 133002)

摘要:髓过氧化物酶(MPO)是一种富含血红素的过氧化物酶,在过氧化氢(H_2O_2)和卤化物作用下,MPO 催化可形成杀菌活性氧化剂和自由基。现在 MPO 衍生的氯化化合物已经成为了许多疾病发展的生物标志物。因此了解 MPO 的致病机理有助于开发益于治疗 MPO 的抑制剂,以减轻 MPO 衍生氧化剂的负面影响。本文主要介绍 MPO 在生理学上的作用和性质、MPO 的相关疾病及目前在体内外直接或间接检测 MPO 活性的方法。旨在为 MPO 的相关研究和疾病诊断提供更全面的信息。

关键词:髓过氧化物酶;MPO 相关疾病;致病机理;MPO 活性检测

中图分类号:R97

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.13.036

文章编号:1006-1959(2024)13-0165-04

Myeloperoxidase-related Diseases and its Detection Methods

LIU Yan-ping,JIN Jing-yi,ZHENG Ming-hua

(Research Centre of Chemical Biology,Yanbian University,Yanji 133002,Jilin,China)

Abstract: Myeloperoxidase (MPO) is a heme-rich peroxidase that catalyzes the formation of bactericidal oxidants and free radicals under the action of hydrogen peroxide (H_2O_2) and halides. Now MPO-derived chlorinated compounds have become biomarkers for the development of many diseases. Therefore, understanding the pathogenesis of MPO is helpful to develop inhibitors that are beneficial to the treatment of MPO, so as to reduce the negative effects of MPO-derived oxidants. This article mainly introduces the physiological role and nature of MPO, MPO-related diseases, and current methods for direct or indirect detection of MPO activity in vivo and in vitro. The aim is to provide more comprehensive information for MPO related research and disease diagnosis.

Key words: Myeloperoxidase;MPO-related diseases;Pathogenesis;MPO activity detection

髓过氧化物酶(MPO)是一种重要的亚铁血红素过氧化物酶,是血红素过氧化物酶家族的主要成员。MPO 主要在中性粒细胞中表达,在单核细胞中的表达程度较低^[1]。MPO 在中性粒细胞中的过表达会促进炎症、免疫和氧化应激的发生^[2]。MPO 的致病机理是通过催化产生氧化物种进行的,能产生包括次氯酸(HOCl)、活性氧(ROS)、活性氮(RNS)和活性卤素物种在内的多种氧化物种^[3,4]。HOCl 在清除病原体中发挥了至关重要的作用。高浓度的 HOCl 也与宿主组织损伤和多种炎症性疾病有关。MPO 及其产生的氧化物种与各种疾病之间的关系非常密切,例如,在慢性炎症期间,HOCl 的过量产生会导致细胞损伤,与动脉粥样硬化、神经退行性疾病等多种疾病相关^[5,6]。因此,MPO 可作为组织损伤和疾病的标志

物^[7],监测 MPO 的活性将有助于了解 MPO 与疾病进展之间的关系。酶联免疫吸附法(ELISA)是定量检测酶活性的通用方法^[8]。另外,生物发光成像法、电化学法、密度梯度离心法^[9]、流式细胞术法^[10]等均可用于 MPO 活性的测定。除此之外,通过 MPO 催化产生 HOCl 的测定或衍生 ROS/RNS 的测定也可用于 MPO 活性的检测。本文主要阐述与 MPO 相关的疾病及其检测方法,旨在为研究人员更全面地了解 MPO,以及为相关疾病的诊疗提供参考。

1 与 MPO 相关的疾病

1.1 心血管疾病 心血管疾病(CVD)是一类涉及心脏或血管的疾病。包括冠心病(CAD)、心力衰竭、高血压心脏病、风湿性心脏病、心肌病、心律失常、先天性心脏病、风湿性心脏瓣膜病以及冠状动脉疾病等。Chhoden RS 等^[11]的研究表明,MPO 基因的表达可能参与了冠状动脉粥样硬化(ACS)的发病机制。ACS 的主要机制是 MPO 及其催化氧化产物对内皮细胞的腐蚀和破坏。MPO 由活化的白细胞在血管内释放,在血管内皮内运输和贮存,进而催化产生的 ROS,主要是 HOCl 破坏内皮细胞导致 ACS。

1.2 癌症 癌症一般都是由恶性肿瘤引起的,会破坏

基金项目:国家自然科学基金(编号:21768004,22267019)

作者简介:刘彦平(1998.2-),男,甘肃庆阳人,硕士研究生,主要从事髓过氧化物酶抑制剂与荧光标记方法的研究

通讯作者:郑明花(1973.9-),女,辽宁辽阳人,博士,副教授,主要从事化学生物学研究

组织、器官的结构和功能,最终由于器官功能衰竭而死亡。Acik V 等^[11]的研究表明,脑动脉瘤是一种发病率和死亡率较高的临床疾病,主要发生在脑动脉的分叉点,高 MPO 水平与氧化应激和炎症相关,且动脉瘤破裂是一种炎症性事件。基于上述原因,该团队认为动脉瘤破裂与 MPO 水平的升高有关。Valadez-Cosmes P 等^[6]的研究表明,肿瘤的发展和进展受到构成肿瘤微环境(TME)的不同成分的影响。癌细胞和近端免疫细胞之间的相互作用最终会导致一个促进肿瘤生长和转移的环境;使用 MPO 相关抑制剂并阻断其结合、内化和核转位的组合方法是通过调节 MPO 活性,控制癌症的发展,开辟了新的癌症治疗策略。基于此,Liu N 等^[12]构建了一种新型的癌症纳米疗法,命名为 FePCP-5,以抑制肿瘤生长并同时提高肿瘤内 MPO 和 H_2O_2 水平。

1.3 中枢神经系统疾病 中枢神经系统出现的所有的病变都属于是神经系统的疾病,如脑血管病、帕金森病(PD)、老年性痴呆、脱髓鞘、脑炎等。MPO 在循环中性粒细胞和单核细胞中过表达,但在正常脑组织的小胶质细胞中不表达。然而,在阿尔茨海默病(AD)斑块中的多发性硬化病变和小胶质细胞中发现了 MPO,这表明 MPO 可能在小胶质细胞的炎症反应中发挥作用。同时,MPO 对 ApoE 蛋白的氧化作用进一步支持了其在 AD 发病机制中的作用。Kazmi I 等^[13]的研究结果表明,7-O-甲基圣草酚具有神经保护、抗炎和抗氧化的特性,是一种治疗 AD 的有效药物。Sara C 等^[14]开发的基于鼻内注射干扰素($IFN-\beta$)是一种有助于预防或延迟 AD 患者认知能力下降的治疗 AD 的方法。帕金森病是中枢神经系统疾病的一种,Eyvari Brooshghalan S 等^[15]的研究表明,MPO 在帕金森病中起着重要作用,由于帕金森病患者大脑黑质致密部缺失多巴胺能神经元,导致神经胶质细胞中 MPO 的表达增加。在之后的研究中,该工作组提出将利肝素作为一种抗帕金森病的治疗方式。但是,利肝素的治疗期以及合适的药物剂量并不是十分明确,尚需要经过长时间的临床实验。

1.4 其他疾病 MPO 和 MPO 衍生的 HOCl,以及其他一些 ROS、RNS 与疾病的发展和发生密切相关,尤其是在一些炎症性疾病中。MPO 在调节肺部炎症中的重要性,与其假定的杀死微生物的功能无关,而与 MPO 调节中性粒细胞寿命和影响炎症部位趋化因

子积累的能力有关。MPO 具有将氯化物转化为 HOCl、将氯离子(Cl^-)转化为次氯酸盐的独特性质,HOCl 的化学性质使其成为多种疾病的主要致病因素,如皮肤炎症、心血管疾病、代谢综合征、动脉粥样硬化、内毒素血症、白血病^[16]、糖尿病肾病^[17]、男性不育症^[18]和神经退行性疾病^[19]等。此外,MPO 也可通过对低密度脂蛋白的氧化或对高密度脂蛋白的修饰来影响冠状动脉疾病。

2 MPO 的检测方法

2.1 生物成像发光方法检测 MPO 活性 活化吞噬细胞的 MPO 系统是正常宿主防御机制的核心,而 MPO 的失调会导致动脉粥样硬化和癌症等炎症性疾病的发病机制发生变化。Liu L 等^[20]报道了一种“关-开”型的近红外(NIR)探针 FD-301,它可以特异性地与 MPO 结合,并通过与 MPO 产生的 HOCl 的快速反应,准确测量活细胞体内的 MPO 活性。需要注意的是,FD-301 可以检测人类幼粒细胞白血病细胞(HL-60)中 MPO 活性的基础水平,并可以区分 MPO 的高表达细胞和低表达细胞。此外,FD-301 已成功应用于 MPO 的依赖性炎症,如关节炎和炎症性肠病的体内成像。在随后的研究工作中,Ma JY 等^[21]开发了基于 CRISPR/Cas12a 的生物传感器,用于简便、灵敏和特异性地检测 MPO 活性。该 MPO 生物传感器的灵敏度高,检测限低(0.67 ng/ml)。Yang JL 等^[22]将核酸位点特异性切割(NSC)作为开发化学发光光纤生物传感器(CFOS)的识别机制,NSC-CFOS 系统已成功应用于 MPO 活性的检测。该检测方法对 MPO 的检测具有检测限低(0.0017 mU/ml)、检测范围广(0.005~1.0 mU/ml)、检测特异性强(识别 MPO 催化产生的 HOCl 的特异性切割位点)的优点。

2.2 电化学方法检测 MPO 活性 利用电化学方法检测 MPO 活性可以实现原位检测,这有助于经济、高效、准确、快速地诊断和治疗一些疾病。2021 年,Hoyo J 等^[23]选择了氧化还原中间体-2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS),以建立检测 MPO 的电化学方法。MPO 氧化 ABTS 的电化学还原反应所涉及的电荷与 MPO 的浓度相关。ABTS 的使用允许对各种 MPO 浓度(10~1000 nM)进行电化学评估。该方法响应速度快,检测范围广,非常适合于原位检测。

2.3 MPO 衍生 HOCl 的检测 研究表明,MPO 是唯一以合理速率产生 HOCl 的人髓过氧化物酶。HOCl 来

源于 MPO 催化的 Cl^- 和 H_2O_2 。细胞中 HOCl 水平的增加与 MPO 活性的增加一致。因此, MPO 的活性可以通过检测 HOCl 水平来间接测量。荧光探针可以设计成用于特异性识别 MPO 及其催化产物 HOCl , MPO 活性的变化可以通过观察荧光强度的变化来检测。最近, Dong H 等^[24]成功开发了一种基于 9-酰基亚甲基蓝衍生物(MBS)电化学分子识别探针来监测 HOCl 。该检测机制具有良好的选择性和灵敏度, 测量具有高度重复性。Wu K 等^[25]报道了第一个可以在生物体内检测 HOCl 和成像动脉粥样硬化(AS)的功能性 DNA 纳米传感器。该传感器将具有 HOCl 响应性的硫代磷酸酯(PS)插入 DNA 中, 然后将其与金纳米粒子(AuNP)核组装, 形成 HOCl 特异性纳米荧光探针。PS 和 HOCl 之间的水解触发了探针的荧光开启, 导致荧光强度增强。该荧光探针显示出优异的灵敏度(低至 8.51 nM)和 HOCl 检测的特异性, 对 AS 的临床诊断和治疗评价具有巨大潜力。Wang ZK 等^[26]开发了一种近红外荧光探针 AS-CN, 能够同时进行粘度和 HOCl 的检测, 该探针具有 Stokes 位移大, 检测限低(12 nM), 灵敏度高, 生物相容性好等优点, 且可用于动脉粥样硬化疾病中 HOCl 水平的检测。

2.4 MPO 衍生 ROS/RNS 的检测 为了研究复杂系统中的 MPO, 必须有一种有效的方法来识别 MPO 催化产生的 ROS/RNS 或其他催化氧化产物。Ying WW 等^[27]成功制备了一种新的近红外荧光探针 MB-SO, 用于测定戊四唑(PTZ)诱发癫痫发作的大脑内源性超氧阴离子(O_2^-), MB-SO 具有高灵敏度(检测限为 14 nM)、良好的选择性和对 O_2^- 的快速响应。体内的一氧化氮(NO)与 O_2^- 反应可以生成过氧亚硝酰(ONOO^-)。它是一种高活性的 RNS 物种, 与多种病理状态有关。因此, Wang Y 等^[28]开发了一种小分子近红外(NIR)开启荧光传感器(NN1), 可以简单、快速、可靠的检测 ONOO^- 。NN1 具有优异的光学性能和检测性能, 并且可以检测和成像炎症细胞和小鼠中体内的 ONOO^- 。在之后的研究中, Yan HL 等^[29]设计并合成了一种基于四苯基衍生物和罗丹明类似物的荧光探针 TR- ONOO^- , 用于检测 ONOO^- 。当探针单独存在时, 它没有荧光; 当在探针 TR- ONOO^- 溶液中加入 ONOO^- 时, 考虑到 ONOO^- 的强氧化性质, TR- ONOO^- 分子中桥接四苯基衍生物和罗丹明类似物的碳碳双键被氧化, 四苯基部分的荧光将被

释放, 从而使设计的探针可以实现荧光的开启。并且荧光强度增加了约 40 倍, 溶液颜色会发生由紫色到浅黄色的一个变化, 因而可以用肉眼检测到 ONOO^- 。此外, 探针 TR- ONOO^- 对 ONOO^- 的识别具有较高的选择性和快速的响应时间, 以及很低的检测极限(0.52 μM)。结合荧光成像, TR- ONOO^- 已被成功应用于实时跟踪内源性 ONOO^- 。Kang Z 等^[30]开发了一种双位点化学传感器 SPI, 该传感器能够在自己的荧光通道上实现羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和半胱氨酸(Cys)的定量检测和实时成像, 且不存在串扰。该化学传感器可用于实时成像细胞内外源性和内源性 $\cdot\text{OH}$ 和 Cys 的实时浓度变化。

3 总结

MPO 的表达和过表达与疾病的发生密切相关, 在心血管疾病、血管炎症疾病、癌症和中枢神经系统疾病等多种病理过程中起着重要作用。然而, MPO 与疾病过程之间的关联非常复杂, 对其认识尚处于不断深化阶段。因此, 对 MPO 的活性进行实时、原位、活体检测是了解其在相关疾病发生、发展过程中作用机制的重要手段。本文对生物发光成像、电化学、衍生 HOCl 和衍生 ROS/RNS 四种 MPO 的检测方法进行了总结。不同的检测方法在灵敏度、准确度和操作技术方面具有一定的差异性, 对于具体方法的选择可以根据现实需要具体分析。MPO 广泛地参与各种炎症反应和发展过程, 与多种疾病的诊疗密切相关。MPO 的检测和病理学研究具有实际的临床诊疗价值, 目前仍需要发展新型的低检测限、高灵敏度的快速检验方法。

参考文献:

- [1] Siraki AG. The many roles of myeloperoxidase: From inflammation and immunity to biomarkers, drug metabolism and drug discovery[J]. Redox Biol, 2021, 46: 102109.
- [2] Chhoden RS, Ferdous M, Adhikary DK, et al. Expression of neutrophil elastase and myeloperoxidase genes in coronary atherosclerosis[J]. Gene Reports, 2021, 25: 101336.
- [3] Andrés CMC, Pérez de la Lastra JM, Juan CA, et al. The Role of Reactive Species on Innate Immunity [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10(10): 1735.
- [4] Panasenkov OM, Ivanov VA, Mikhalechik EV, et al. Methylglyoxal-Modified Human Serum Albumin Binds to Leukocyte Myeloperoxidase and Inhibits its Enzymatic Activity [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(11): 2263.
- [5] Saylam M, Aydın Köse F, Pabuccuoglu A, et al. Design, synthe-

- sis, and biological activity studies on benzimidazole derivatives targeting myeloperoxidase[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, 248: 115083.
- [6] Valadez -Cosmes P, Raftopoulou S, Mihalic ZN, et al. Myeloperoxidase: Growing importance in cancer pathogenesis and potential drug target[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 236: 108052.
- [7] Hawkins CL, Davies MJ. Role of myeloperoxidase and oxidant formation in the extracellular environment in inflammation-induced tissue damage[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 172: 633-651.
- [8] Karel MFA, Roosen MGCH, Tullemans BME, et al. Characterization of cerebral small vessel disease by neutrophil and platelet activation markers using artificial intelligence [J]. *J Neuroimmunol*, 2022, 367: 577863.
- [9] London D, Elhasid R, Baron S. Determination of reference intervals for neutrophil granular enzymes is affected by cell isolation techniques[J]. *J Immunol Methods*, 2022, 510: 113346.
- [10] 刘悦, 彭新晨, 徐俊楠, 等. 髓过氧化物酶抗体相关性血管炎患者外周血中性粒细胞胞内髓过氧化物酶表达及其意义[J]. *中华内科杂志*, 2022, 61(9): 1016-1022.
- [11] Acik V, Kulahci O, Arslan A, et al. The Impact of Myeloperoxidase in the Rupturing of Cerebral Aneurysms[J]. *World Neurosurg*, 2021, 147: e105-e110.
- [12] Liu N, Zuo W, Wu L, et al. Myeloperoxidase-targeted nanotheranostics for self-enhanced synergetic photo/chemo/chemodynamic therapy[J]. *Mater Today Chem*, 2022, 23: 100740.
- [13] Kazmi I, Al -Abbasi FA, Afzal M, et al. Sterubin protects against chemically-induced Alzheimer's disease by reducing biomarkers of inflammation- IL-6/ IL- β / TNF- α and oxidative stress- SOD/MDA in rats [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2023, 30(2): 103560.
- [14] Sara C, Vajihe S, Esmail I. Intranasal interferon -beta as a promising alternative for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Med Hypotheses*, 2023, 170: 110996.
- [15] Eyvari Brooshghalan S, Sabahi M, Ebadi SA, et al. Silibinin chronic treatment in a rat model of Parkinson disease: A comprehensive in-vivo evaluation and in silico molecular modeling [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 941: 175517.
- [16] Kongkiatkamon S, Terkawi L, Guan Y, et al. Rare germline alterations of myeloperoxidase predispose to myeloid neoplasms [J]. *Leukemia*, 2022, 36(8): 2086-2096.
- [17] Mansoor G, Tahir M, Maqbool T, et al. Increased Expression of Circulating Stress Markers, Inflammatory Cytokines and Decreased Antioxidant Level in Diabetic Nephropathy[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2022, 58(11): 1604.
- [18] Haidari F, Mohammadi -Asl J, Kavianpour M, et al. Effect of lipoic acid supplementation on gene expression and activity of glutathione S-transferase enzyme in infertile men [J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2021, 24(4): 276-283.
- [19] Saylam M, Aydın Köse F, Pabuccuoglu A, et al. Design, synthesis, and biological activity studies on benzimidazole derivatives targeting myeloperoxidase [J]. *Eur J Med Chem*, 2023, 248: 115083.
- [20] Liu L, Wei P, Yuan W, et al. Detecting Basal Myeloperoxidase Activity in Living Systems with a Near -Infrared Emissive "Turn-On" Probe[J]. *Anal Chem*, 2020, 92: 10971-10978.
- [21] Ma JY, Liu B, Raza S, et al. CRISPR/Cas12a-based hypochlorous acid and myeloperoxidase biosensors designed on RESET effect[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2023, 376: 133000.
- [22] Yang JL, Li DS, Jia YX, et al. Site-specific cleavage-based chemiluminescent optical fiber biosensor for highly sensitive assay of myeloperoxidase activity and inhibitor screening[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2023, 384: 133629.
- [23] Hoyo J, Bassegoda A, Tzanov T. Electrochemical quantification of biomarker myeloperoxidase [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2021, 77(7-8): 297-302.
- [24] Dong H, Zhou Y, Zhao L, et al. Dual-Response Ratiometric Electrochemical Microsensor for Effective Simultaneous Monitoring of Hypochlorous Acid and Ascorbic Acid in Human Body Fluids[J]. *Anal Chem*, 2020, 92: 15079-15086.
- [25] Wu K, Yao C, Yang D, et al. A functional DNA nanosensor for highly sensitive and selective imaging of ClO⁻ in atherosclerotic plaques[J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 209: 114273.
- [26] Wang ZK, Wang BY, Hou JT, et al. A two-pronged detection of atherosclerosis with a dual-channel fluorescent probe for viscosity and hypochlorous acid[J]. *Chem Eng J*, 2023, 464: 142687.
- [27] Ying WW, Dong FX, Shi YF, et al. Superoxide anion monitoring in epileptic brains with a near-infrared fluorescent probe [J]. *Dyes Pigments*, 2023, 213: 111155.
- [28] Wang Y, Zhao L, Xie L, et al. Construction of a robust turn-on fluorescence NIR sensor for rapid detection and imaging of ONOO⁻ in inflammatory models [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2023, 5(295): 122624.
- [29] Yan HL, Xu XJ, Li JS, et al. A novel fluorescence-on fluorescent probe for ONOO⁻ detection in HeLa cells [J]. *J Photoch-Photobio A*, 2023, 440: 114638.
- [30] Kang Z, Jiang J, Tu Q, et al. Dual-Site Chemosensor for Monitoring \cdot OH-Cysteine Redox in Cells and In Vivo [J]. *J Am Chem Soc*, 2023, 145(1): 507-515.

收稿日期: 2023-05-16; 修回日期: 2023-06-25

编辑/肖婷婷