

Clin Cancer Res, 2017, 36(1):111-126.

[46] LI H, HUI L L, XU W L, et al. Triptolide modulates the sensitivity of K562/A02 cells to adriamycin by regulating miR-21 expression[J]. Pharm Biol, 2012, 50(10):1233-1240.

[47] 张鑫宇, 刘皈阳, 刘浩, 等. 雷公藤甲素与吉非替尼序贯应用对人肺腺癌细胞 H1975 存活及凋亡通路的影响[J]. 中国肺癌杂志, 2015, 18(10):599-609.

[48] WANG G, WANG X, XU X X. Triptolide potentiates lung cancer cells to cisplatin-induced apoptosis by selectively inhibiting the NER activity[J]. Biomark Res, 2015,

9(3):17-26.

[49] FIDLER JM, LI K, CHUNG C, et al. PG490-88, a derivative of triptolide, causes tumor regression and sensitizes tumors to chemotherapy[J]. Mol Cancer Ther, 2003, 2(9):855-862.

[50] LI X J, JIANG Z Z, ZHANG L Y. Triptolide: progress on research in pharmacodynamics and toxicology[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 155(1):67-79.

(收稿日期:2018-05-17 修回日期:2018-08-02)

• 综 述 •

## 髓过氧化物酶在慢性肾病患者中的研究进展\*

席可, 吴嘉综述, 汪俊军<sup>△</sup>审校

(中国人民解放军南京总医院临床检验科, 江苏南京 210002)

**摘要:**慢性肾病(CKD)是全球性公共健康问题。终末期肾病(ESRD)指各种 CKD 的终末阶段, 具有较高的心血管并发症和死亡风险, 且无论透析或是肾移植, 其经济成本均较高。CKD 患者由于代谢紊乱、免疫缺陷、炎症反应等原因, 机体内伴随进展性氧化应激的风险大大增加。氧化应激是指体内氧化和抗氧化系统的失衡, 可导致多组织器官的氧化损害和功能障碍。髓过氧化物酶(MPO)主要存在于髓系细胞嗜苯胺蓝颗粒中, 是反应中性粒细胞和巨噬细胞活化的特异性指标。MPO 及其衍生氧化物可通过对多种生物分子的氧化修饰作用, 促进了 CKD 及其并发症的发生、发展。

**关键词:**慢性肾脏疾病; 髓过氧化物酶; 氧化应激; 脂质过氧化; 心血管疾病

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.023

**中图法分类号:**R692

**文章编号:**1673-4130(2018)24-3086-04

**文献标识码:**A

慢性肾病(CKD)是全球性公共健康问题。终末期肾病(ESRD)指各种 CKD 的终末阶段, 具有较高的心血管并发症和死亡风险, 且无论透析或是肾移植其经济成本均较高。CKD 患者由于代谢紊乱、免疫缺陷、炎症反应等原因, 机体内伴随进展性氧化应激的风险大大增加<sup>[1]</sup>。氧化应激是指体内氧化和抗氧化系统的失衡, 可导致多组织器官的氧化损害和功能障碍。髓过氧化物酶(MPO)主要存在于髓系细胞嗜苯胺蓝颗粒中, 是反应中性粒细胞和巨噬细胞活化的特异性指标。MPO 及其衍生氧化物可通过对多种生物分子的氧化修饰作用, 促进了 CKD 及其并发症的发生、发展。

### 1 CKD 中的氧化应激反应

CKD 患者由于营养不良、抗氧化防御系统能力下降, 再加上药物和透析的不良反应, 导致促氧化毒素和强氧化产物的逐步累积, 体内氧化还原稳态被破坏, 进而诱发全身性氧化应激损伤。活性氧在 CKD 的发生、发展过程中起着重要作用。研究表明, CKD

患者体内多种氧化损伤标志物水平明显增加; 其中研究较多的有蛋白类的 3-硝基酪氨酸和羧甲基赖氨酸、脂质类的丙二醛、4-羟基壬烯醛、脂氢过氧化物、羟胆固醇、F<sub>2</sub>-异前列腺素和氧化低密度脂蛋白, 以及核酸类的 DNA 和 RNA 氧化等<sup>[2]</sup>。虽然透析给 ESRD 患者保证了一定的生活质量, 但长期透析治疗也可引起多种并发症, 这可能与透析过程中活性氧的生成和清除不平衡有关。透析可导致亲水性抗氧化物质的丢失、脂溶性抗氧化物质的消耗、辅酶和抗氧化酶功能障碍, 进一步减弱机体的抗氧化能力<sup>[3]</sup>。

CKD 患者还普遍存在系统性炎症反应, 其机制可能与免疫缺陷、免疫细胞活化、促炎细胞因子和氯化氧化物生成等有关。在慢性肾功能不全队列研究(CRIC)中, 肾小球滤过率(GFR)与多种炎症标志物呈负相关; CKD 患者高水平的急性时相反应蛋白与促炎因子可预测其心血管疾病的发生率和死亡率。同样, 透析也可促进全身性的炎症反应<sup>[4]</sup>。由于血液与透析膜的生物相容性反应, 中性粒细胞、单核细胞被

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81572074);南京军区南京总医院院管课题资助项目(2015054)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: wangjj9202@163.com。

本文引用格式:席可, 吴嘉, 汪俊军. 髓过氧化物酶在慢性肾病患者中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(24):3086-3089.

激活,产生氧化活性中间物,致使促炎氧化应激反应的发生,该过程中 MPO 发挥了重要作用<sup>[3]</sup>。研究显示,透析患者体内中性粒细胞脱颗粒产物 MPO 和弹性蛋白酶水平增加<sup>[5]</sup>。

## 2 MPO 是 CKD 高氧化应激状态的关键因子

MPO 含有血红素,与吞噬细胞杀伤微生物的氧化依赖性机制有关。MPO 在中性粒细胞的嗜苯胺蓝颗粒中含量最多,其次为单核细胞和一些巨噬细胞亚群<sup>[6]</sup>,包括常驻组织的巨噬细胞,如腹膜巨噬细胞、小胶质细胞和 Kupffer 细胞。MPO 可催化过氧化氢反应,将超氧阴离子、卤化物和拟卤化物离子( $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$  和  $\text{SCN}^-$ )歧化成相应的次卤酸(次氯酸、次溴酸、次硫氰酸)或者活性氮化物、酪氨酰基等活性中间体<sup>[3,6]</sup>。次氯酸及其他 MPO 衍生氧化物可介导蛋白、核酸、脂质和碳水化合物等生物分子的氧化损伤,进而影响组织器官的功能<sup>[7]</sup>。次氯酸可通过降低细胞外基质蛋白对内皮细胞的黏附性来诱导内皮细胞的功能障碍;并可活化基质金属蛋白酶,使内皮细胞周围的血管和组织环境变得不稳定。中性粒细胞是血管炎症的主要调节者<sup>[8]</sup>。由于细胞外的 MPO 可催化血液中的脂蛋白和其他分子发生过氧化反应,因此,通常认为 MPO 是体内脂质过氧化的主要推动因子之一。血浆脂蛋白的脂质过氧化可进一步促进动脉粥样硬化的发生,这与 CKD 患者高发动脉粥样硬化性心血管并发症密切相关。

## 3 MPO 源性的氧化物与 CKD 的蛋白损伤

在体内和体外条件下,次氯酸可与多种生物分子发生反应,包括含硫醇、氮及不饱和羰基的化合物等。次卤酸与蛋白分子的反应,可使蛋白发生解折叠和酶失活。在吞噬细胞的活性期间形成的蛋白氧化产物被认为是 MPO 活性的特异性标志物,血浆中这种产物的增加代表 CKD 患者氧化应激能力加强。

血浆中的清蛋白和低分子抗氧化物可保护细胞外液免受吞噬细胞产生氧化剂的影响。清蛋白是最丰富和最重要的血浆蛋白;生理条件下,血清清蛋白占总血浆蛋白的 50%~60%。因此,清蛋白是人体血浆中氧化物的强清除剂,具有抑制羟基自由基、过氧自由基及次氯酸反应的能力。血浆蛋白对活性物质非常敏感,当清蛋白长期处于氧化应激状态时,其构象和功能会发生变化,氧化修饰后清蛋白会不可逆的丧失了其生物学特性。在长期透析的尿毒症患者中,清蛋白的结构改变,导致其与配体的结合能力以及其抗氧化能力均下降<sup>[9]</sup>。

CKD 患者的低蛋白血症,可能是由于炎症和蛋白、卡路里摄入不足所导致的。炎症反应可诱发厌食症,通过产生特定细胞因子以进一步降低血浆清蛋白浓度,还可抑制清蛋白的吸收、增加内源性清蛋白的分解代谢。由于清蛋白是血液和细胞外环境中的重要抗氧化剂,低蛋白血症促进了 CKD 患者氧化应激

反应的发生和发展。在人体中,清蛋白可充当一氧化氮的储备库,因此,低蛋白血症也降低了一氧化氮的生物利用度和内皮依赖性的血管舒张作用。研究表明,在接受血液透析的患者中,低蛋白血症是脑血管疾病(CVD)发生的不利因素;血浆清蛋白水平与透析患者的生存预后密切相关<sup>[10]</sup>。

CKD 患者中高水平的尿素,可通过蛋白氨基甲酰化反应促进蛋白的翻译后修饰。临床研究显示,在维持透析的 CKD 和 ESRD 患者中,血液氨基甲酰化清蛋白的水平可预测 CVD 的发生风险<sup>[11]</sup>。氨基甲酰化清蛋白可促进炎症反应,动脉粥样硬化斑块中含有丰富的氨基甲酰化清蛋白;氨基甲酰化低密度脂蛋白(LDL)可能是泡沫细胞的致病性配体;白细胞 MPO 催化的蛋白氨基甲酰化是人类动脉粥样硬化病变中氨基甲酰化的主要机制<sup>[12]</sup>。尿素是人体内蛋白分解的代谢产物,在水溶液中可缓慢分解形成氰酸(及其共轭碱、氰酸酯)。生理状态下,氰酸和它的活性形式异氰酸处于平衡状态。健康人血浆中异氰酸浓度约为 50 nmol/L,而 CKD 患者中可高达 150 nmol/L<sup>[5]</sup>。活性形式的异氰酸,能够与蛋白氨基特别是赖氨酸残基的氨基相互作用,产生高瓜氨酸<sup>[2]</sup>。氰酸酯也可经由 MPO 催化拟卤化物硫氰酸的氧化反应产生<sup>[11]</sup>。硫氰酸是 MPO 的优选底物;生理条件下约有高达 50%的过氧化氢被 MPO 用来氧化硫氰酸。大量证据已证实,蛋白的氨基甲酰化可导致高密度脂蛋白(HDL)和 LDL 的功能受损<sup>[13]</sup>。

## 4 MPO 与 CKD 患者的脂质紊乱和脂质过氧化

动脉粥样硬化性 CVD 的并发症是 CKD 患者死亡的主要原因。由 MPO 和氯化氧化物系统介导的脂质的氧化或氯化是动脉粥样硬化的发生和进展的关键过程<sup>[14]</sup>。MPO 催化产生的氯化氧化物可促使 LDL 氧化,是动脉粥样硬化斑块中泡沫细胞形成的始动因素<sup>[15]</sup>。氧化修饰的脂蛋白可抵抗胆固醇逆向转运,脂质过氧化物还可影响单核细胞的活化、黏附、渗透和分化功能。

血脂异常是增加 CKD 患者 CVD 风险的重要因素<sup>[16]</sup>。CKD 患者最常见的血脂异常包括三酰甘油及高富含三酰甘油脂蛋白(如极低密度脂蛋白和中间密度脂蛋白)水平增加,而高密度脂蛋白水平降低。脂蛋白脂酶(LPL)主要水解乳糜微粒和极低密度脂蛋白;肝脂肪酶(HL)主要水解中间密度脂蛋白(IDL)和 LDL;内皮脂肪酶(EL)主要水解高密度脂蛋白。LPL 的活性降低和富含三酰甘油脂蛋白颗粒的代谢缓慢可导致 CKD 患者血脂异常的发生、发展。全身性炎症反应和氧化应激、脂蛋白氧化修饰、载脂蛋白氨基甲酰化、编码基因下调等因素均可抑制 CKD 患者中的脂肪分解酶的活性和作用<sup>[17]</sup>。

众所周知,LDL 在动脉粥样硬化的发生、发展中起重要作用<sup>[17]</sup>。MPO 衍生的氧化产物可诱导 LDL

蛋白和脂质组分发生氧化,形成 MPO 依赖性的氧化 LDL 颗粒<sup>[18]</sup>。氧化 LDL 较天然 LDL 具有更强的致动脉粥样硬化改变作用:诱导内皮功能障碍、促进炎症反应、趋化巨噬细胞、刺激巨噬细胞集落刺激因子表达、影响黏附分子和单核细胞的活化等。在 CKD 患者持续性的氧化应激和慢性炎症状态下,细胞外 MPO 的增加可能是脂蛋白发生氧化修饰的主要引发剂。有研究显示,氧化 LDL 在 CKD 患者循环血液和肾间质组织中高度富集;透析患者体内高水平的 MPO 依赖性氧化 LDL 可作为血浆 MPO 活性的潜在标志物<sup>[18]</sup>。

HDL 除了参与胆固醇逆向转运、从细胞中运输过量胆固醇至肝脏进一步代谢的作用外,还发挥了抑制内源性炎症反应、血小板聚集和 LDL 氧化的作用<sup>[19]</sup>。在 CKD 患者中,血液中 HDL 胆固醇的水平降低,且存在 HDL 颗粒的结构修饰和功能损伤<sup>[19]</sup>。活性脂质过氧化产物如丙二醛可以修饰和交联载脂蛋白 AI 中的特定残基,导致 HDL 的功能改变,进而影响巨噬细胞中胆固醇的流出,促进动脉粥样硬化发展。此外,CKD 患者中卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)和对氧磷酶活性降低,也会影响胆固醇的逆向转运。CKD 患者 HDL 颗粒减弱的抗氧化和抗炎特性,也可能是源于 HDL 代谢相关酶如对氧磷酶等的活性降低。

## 5 CKD 患者 MPO 水平的临床研究

AFSHINIA 等<sup>[20]</sup>选取了不同分期的 111 名 CKD 患者,结果发现随着 CKD 的进展,血浆 MPO 水平呈明显下降趋势,但 MPO 催化反应生成的氧化产物 3-氯化酪氨酸则呈明显升高趋势;进一步分析还发现,伴有冠心病的 CKD 患者血浆 MPO、3-氯化酪氨酸水平均高于未伴有冠心病的患者;由此提示不同分期 CKD 患者血浆 MPO 水平随疾病严重程度逐渐降低,但其催化活性则逐渐增加;血浆 MPO、3-氯化酪氨酸水平可作为 CKD 患者发生冠心病的风险预测因子。CHEN 等<sup>[21]</sup>选取了 CRIC 中 3 169 例 CKD 患者,经过平均 6.3 年的随访,结果发现在排除年龄、性别、种族、吸烟、血脂等传统危险因素的影响后,发生了外周动脉疾病的 CKD 患者血浆 MPO 水平仍明显高于未发生外周动脉疾病的患者;可见升高血浆 MPO 水平与外周动脉疾病的发生风险密切相关。另有研究显示,在血液透析或连续腹膜透析等肾脏替代治疗的患者中,血清 MPO 活性或浓度均增加<sup>[22]</sup>,可见,透析治疗可明显增加 CKD 患者中性粒细胞的 MPO 水平。

## 6 展 望

探讨氧化应激对 CKD 的发生和发展的作用,有助于评估其肾功能损伤程度,指导临床治疗方案以进一步减缓疾病进程、延迟并发症和合并症的发生。嗜中性粒细胞的活化,MPO 的释放及其氯化中间产物

的形成,可诱发 CKD 患者体内的高氧化应激状态及全身性炎症反应,进而对生物分子造成持续性的氧化损伤。MPO 衍生氧化产物可影响细胞功能并促成组织损伤。氧化修饰的脂质和蛋白可促进动脉粥样硬化的发生,进而导致 CKD 患者的 CVD 并发症。尽管近年来部分研究对 MPO 及其氯化中间产物的复杂作用机制取得了一定的进展,但其在 CKD 和 ESRD 中介导氧化应激和炎症反应的确切分子机制仍需进一步研究。

## 参考文献

- [1] ZARGARI M, SEDIGHI O. Influence of hemodialysis on lipid peroxidation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity in chronic renal failure patients [J]. *Nephrourol Mon*, 2015, 7(4): e28526.
- [2] TUCKER P S, DALBO V J, HAN T, et al. Clinical and research markers of oxidative stress in chronic kidney disease [J]. *Biomarkers*, 2013, 18(2): 103-115.
- [3] ABRANTES D C, BRUNINI T M, MATSUURA C, et al. Diminished nitric oxide Generation from neutrophils suppresses platelet activation in chronic renal failure [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 401(1/2): 147-153.
- [4] GUPTA J, MITRA N, KANETSKY P A, et al. Association between Albuminuria, Kidney Function, and Inflammatory Biomarker Profile in CKD in CRIC [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(12): 1938-1946.
- [5] HSIAO K C, TSAI J P, YANG SHUN-FA, et al. MMP-2 serum concentrations predict mortality in hemodialysis patients; a 5-year cohort study [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2016, 452(452): 161-166.
- [6] RAYNER B S, LOVE D T, HAWKINS C L. Comparative reactivity of myeloperoxidase-derived oxidants with mammalian cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 71: 240-255.
- [7] MAYADAS T N, CULLERE X, LOWELL C A. The multifaceted functions of neutrophils [J]. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9(1): 181-218.
- [8] ODOBASIC D, KITCHING A R, HOLDSWORTH S R. Neutrophil-Mediated regulation of innate and adaptive immunity; the role of myeloperoxidase [J]. *J Immunol Res*, 2016, 2016: 2349817.
- [9] KISIC B, MIRIC D, DRAGOJEVIC I, et al. Role of myeloperoxidase in patients with chronic kidney disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1069743.
- [10] PANAPUT T, THINKHAMROP B, DOMRONG-KITCHAIPORN S, et al. Dialysis dose and risk factors for death among ESRD patients treated with twice-weekly hemodialysis; a prospective cohort study [J]. *Blood Purif*, 2014, 38(3/4): 253-262.
- [11] VERBRUGGE F H, TANG W. H. WILSON, HAZEN S L. Protein carbamylation and cardiovascular disease [J]. *Kidney Int*, 2015, 88(3): 474-478.
- [12] BERG A H, DRECHSLER C, WENGER J A, et al. Carbamylation of serum albumin as a risk factor for mortality

- in patients with kidney failure[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(175):175ra29.
- [13] KALIM S, KARUMANCHI S A, THADHANI R I, et al. Protein carbamylation in kidney disease: pathogenesis and clinical implications[J]. *Am J Kidney Dis*, 2014, 64(5):793-803.
- [14] SHAO B H, TANG C R, SINHA A, et al. Humans with atherosclerosis have impaired ABCA1 cholesterol efflux and enhanced High-Density lipoprotein oxidation by myeloperoxidase[J]. *Circ Res*, 2014, 114(11):1733.
- [15] BARTER P. Lipoprotein metabolism and CKD: overview[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2014, 18(2):243-246.
- [16] DELPORTE C, VAN ANTWERPEN P, VANHAMME L, et al. Low-density lipoprotein modified by myeloperoxidase in inflammatory pathways and clinical studies[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013:971579.
- [17] RIWANTO M, LANDMESSER U. High density lipoproteins and endothelial functions: mechanistic insights and alterations in cardiovascular disease [J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(12):3227-3243.
- [18] FISMAEL F O, PROUDFOOT J M, BROWN B E, et al. Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants HOCl and HOSCN with low-density lipoprotein (LDL): implications for foam cell formation in atherosclerosis[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2015, 573:40-51.
- [19] RYE K A. Biomarkers associated with high-density lipoproteins in atherosclerotic kidney disease[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2014, 18(2):247-250.
- [20] AFSHINNIA F, ZENG L X, BYUN J, et al. Myeloperoxidase levels and its product 3-Chlorotyrosine predict chronic kidney disease severity and associated coronary artery disease[J]. *Am J Nephrol*, 2017, 46(1):73-81.
- [21] CHEN J, MOHLER E R, XIE D W, et al. Traditional and non-traditional risk factors for incident peripheral arterial disease among patients with chronic kidney disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2016, 31(7):1145-1151.
- [22] CAROLLO C, LO PRESTI R, CAIMI G. Leukocyte activation markers and oxidative status in chronic kidney disease[J]. *Minerva Urol Nefrol*, 2013, 65(1):69-76.

(收稿日期:2018-05-15 修回日期:2018-08-21)

• 综 述 •

## 基因组学技术在中医药研究中的应用\*

曾召琼<sup>1</sup>, 易帆<sup>1</sup>, 李萍<sup>2</sup>综述, 谢小兵<sup>2</sup>审校

(1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心, 湖南长沙 410007)

**摘要:** 中医药发展历史悠久, 影响深远。但由于作用机制不明确, 使其在走向国际化、现代化的道路上困难重重。随着基因组学、蛋白组学和代谢组学等技术的飞速发展, 对传统中医药理论的科学研究越来越深入, 为中医学事业的前进发展提供了新技术、新方法, 成为连接现代科学技术与传统中医药文化的重要桥梁, 为推动中医药走向现代化、国际化发挥着不可忽视的作用。本文阐述了近年来基因组学技术在中医药研究领域的应用, 为今后中医药研究的发展提供新的平台和科学的理论依据。

**关键词:** 基因组学; 中药; 中医症候; 经络

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.024

**文章编号:** 1673-4130(2018)24-3089-04

**中图法分类号:** R2-03

**文献标识码:** A

杨焕明教授在 1999 年 4 月召开的“中医药与基因组学研讨会”上提出:“以基因组学(下称组学技术)作为中医药现代化切入点”。传统中医药与西医在认知方法上存在着巨大差异, 组学技术的出现, 在两套不同的医学体系间找到连接点, 使传统的中医药文化有望变得科学化, 规范化, 为我国中医药事业的飞速发展, 以及其在国内外的推广提供了新的平台、创造了新的机遇。组学技术成为促进中医药发展不可或缺的重要手段。近年来, 这些技术在中医症候、中药

及针灸等研究方面得到了广泛应用, 并取得了重大突破性进展。

### 1 基因组学的概述

基因组学技术是对基因多样性、基因组表达及功能进行的技术, 包括碱基序列的组成及改变, DNA 甲基化、染色质修饰等, 早已广泛应用于中医药研究领域。目前常用的基因组学技术包括定量分析技术如实时荧光定量 PCR、高通量技术如全外显子捕获测序技术, 以及近来取得新技术突破的单细胞测

\* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2011AA02A111)。

△ 通信作者, E-mail: xxiaobing888@163.com。

本文引用格式: 曾召琼, 易帆, 李萍, 等. 基因组学技术在中医药研究中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(24): 3089-3092.