



纳米酶在疾病治疗中的研究与应用*

刘 行^{1,2)**} 李奕璇^{1,2)**} 秦梓通^{1,2)} 赵佳雯^{1,2)} 周悦捷^{1,2)} 刘晓菲^{1)***}

(¹⁾ 西安交通大学第一附属医院MED-X研究院再生与重建医学研究所, 西安 710061; ²⁾ 西安交通大学医学部, 西安 710061)

摘要 纳米酶是一种新型的具有类酶活性的纳米颗粒人工酶, 在生物检测、抗炎、抗氧化损伤和癌症治疗等疾病诊断和治疗领域展现出良好的应用前景。本文总结了具有不同类酶活性的纳米酶在疾病诊治中的应用, 并对影响纳米酶活性的主要影响因素进行了阐述, 将使相关研究人员更好地了解纳米酶的发展现状, 并提供后续研究的相关线索。

关键词 纳米酶, 疾病治疗, 生物检测

中图分类号 R318.08

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0577

天然酶是一种高效的生物催化剂, 可以特异性地降低反应活化能、增加生化反应速率以调节催化反应, 能够控制新陈代谢、能量转化和疾病发生等生理病理过程^[1]。然而, 它们的催化过程只能在相对温和的条件下进行, 当外界环境发生波动时容易失活, 因此不适用于大规模的生产使用^[2]。作为高度稳定和低成本酶的替代品, 人工酶具有成本低、制备简单、性能稳定的特点, 在生物医学应用中展现出了巨大的潜力^[3]。最近, 纳米技术和生物技术的最新进展为开发具有高催化活性的纳米颗粒人工酶提供了新思路。纳米酶是一类既有纳米材料的独特性能, 又有类似天然酶的催化效率和酶促反应动力学的人工模拟酶。同时, 纳米酶具有稳定性好、制备成本低、储存时间长等优点, 能有效避免天然酶制备和纯化过程中的复杂性, 可应用于生物检测、肿瘤治疗以及其他类酶催化反应, 在各种生物应用领域中展现出了良好的应用前景^[4-5]。本文综述了具有不同类酶活性的纳米酶在疾病诊治中的应用, 并对影响纳米酶活性的主要影响因素进行了阐述, 讨论了纳米酶技术目前所面临的挑战和未来发展方向。

1 影响纳米酶活性的因素

影响纳米酶活性的主要因素如图1所示, 详细介绍如下。

1.1 理化性质

1.1.1 尺寸

纳米材料的尺寸能够影响纳米酶的催化效率。比表面积随着粒径的减小而增大, 即纳米酶的尺寸越小, 其比表面积越高, 而较高的比表面积可以暴露更多的活性位点, 促进与底物的相互作用从而使纳米酶具有更高的催化活性^[6-7]。Kalantari等^[8]依次研究了尺寸为1.2、1.4、1.9、2.1、2.9 nm的高硫含量金纳米酶, 结果发现, 金纳米颗粒的尺寸影响了其类过氧化物酶的活性, 1.9 nm的尺寸具有最大的催化活性。Valden等^[9]在二氧化钛的单晶表面制备了直径为1~6 nm的金团簇, 以研究低温催化氧化一氧化碳的异常尺寸依赖性。研究发现, 金团簇在3.5 nm范围内表现出最大的反应活性。上述研究证实, 通过控制纳米酶的颗粒直径可以调节纳米酶的催化活性。

1.1.2 形貌

纳米酶的催化性能也由其形貌决定, 纳米晶体

* 陕西省自然科学基金(2023-JC-QN-0836), 西安交通大学中央高校科研业务经费(xzy012022099), 陕西省科协青年人才托举计划(20230302), 国家自然科学基金重大研究计划(92048202)和陕西省重点研发计划(2022ZDLSF04-09, 2021LL-JB-06)资助。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 19992981729, E-mail: xiaofeilu@xjtu.edu.cn

收稿日期: 2022-12-25, 接受日期: 2023-06-07

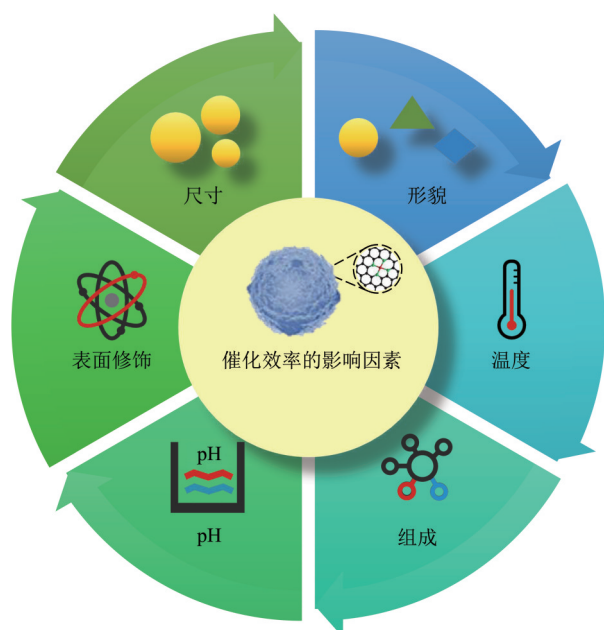


Fig. 1 Major influencing factors of nanozyme activity, including size, morphology, surface modification, element doping, pH, and temperature

图1 纳米酶活性的主要影响因素包括尺寸、形貌、表面修饰、组成、pH和温度

的形貌与纳米晶体表面原子配位环境有关,不同形貌纳米酶表面配位的原子不同,导致其最终的催化活性不同。这可能是因为具有不同晶面显示出不同数量的悬键和各种原子排列,这也决定了纳米酶的选择性和反应性^[10]。Singh等^[11]通过测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)的含量,来比较不同形貌的 Mn_3O_4 的纳米酶的活性,发现菜花状的 Mn_3O_4 在3种酶模拟实验中均表现出最高的活性,而其他形貌的纳米酶只表现出SOD样活性,且其SOD活性均低于菜花状 Mn_3O_4 纳米酶活性,得出菜花样 Mn_3O_4 纳米酶具有治疗活性氧(reactive oxygen species, ROS)介导的神经疾病的潜力的结论。

Gao等^[12]研究了高指数 $\{hk0\}$ 面铂凹纳米立方体(HIF-Pt-CNCs),研究发现,HIF-Pt-CNCs表现出优越的过氧化物酶样催化活性,其催化活性比天然的辣椒根过氧化物酶和铂纳米球高约1500倍和约4倍,因此HIF-Pt-CNCs可以在过氧化氢存在的情况下通过催化过氧化物酶底物的氧化来提供强大

的信号放大。而这一较高的类酶催化速度常数可能是由于HIF-Pt-CNCs具有高晶面指数暴露出更多的催化活性位点所致。并且不同晶面对HIF-Pt-CNCs催化活性大小也各不相同。

1.1.3 表面修饰

大多数化学反应发生在纳米酶的表界面。纳米酶表面经过修饰后通过改变纳米酶表面电荷和微环境,进而影响其活性位点的暴露情况,改变其对底物的亲和力。修饰类型包括物理吸附、共价修饰等。纳米材料的表面改性不仅在纳米材料的合成中起到稳定剂的作用,而且为官能团的进一步耦合提供了反应场所。从而影响其催化效率^[13]。Li等^[14]制备了具有光热活性的半导体聚合物纳米酶,在近红外光(near infrared, NIR)照射下,改变了纳米酶表面修饰的活性位点,使得其活性提高了3.5倍,能够有效地消化肿瘤细胞外基质中的胶原蛋白,增强纳米颗粒在肿瘤中的积累,改善光热治疗效果。Fan等^[15]将组氨酸引入到 Fe_3O_4 表面,以期提高 Fe_3O_4 对 H_2O_2 的亲和力。他们分别制备了裸露的 Fe_3O_4 (Naked- Fe_3O_4)、组氨酸修饰的 Fe_3O_4 (His- Fe_3O_4)和丙氨酸修饰的 Fe_3O_4 (Ala- Fe_3O_4),研究发现,Ala- Fe_3O_4 催化活性略微提升,而实验组His修饰后的 Fe_3O_4 活性得到显著提升。进一步地,通过酶动力学参数比较可知,His修饰可提升 Fe_3O_4 活性特异性,显著提高 Fe_3O_4 纳米酶对 H_2O_2 亲和力。这些通过简单合成和表面修饰的研究,能够促进更优纳米酶的探索。

1.1.4 组成

掺杂其他元素或将多种纳米材料复合也是一种提高纳米酶催化活性的有效途径,经掺杂后的复合纳米酶较未复合的纳米颗粒活性位点更多,表面电子转移能力更强,具有更好的催化活性^[16]。Liu等^[17]合成了掺铁 $\text{CuSn}(\text{OH})_6$ (Fe/ $\text{CuSn}(\text{OH})_6$)纳米酶,研究发现, $\text{CuSn}(\text{OH})_6$ 则不具有多巴胺氧化的催化作用酶活性,而掺杂在Fe/ $\text{CuSn}(\text{OH})_6$ 中的铁元素具有多巴胺氧化的催化作用。Chen等^[18]制备出了肝素偶联的 $\text{Fe}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ 核壳纳米颗粒(metal nanoparticles, MNPs),通过分析比较MNPs和 Fe_3O_4 @肝素NPs的催化活性,发现MNPs的催化活性明显高于 Fe_3O_4 @肝素NPs,这是由于铁核释放铁离子,加速了转化。因此,铁核对提高纳米酶的性能具有重要意义。Liu等^[19]以合金纳米颗粒PtRu为研究模型,通过改变金属盐比例,制备出金属盐组成成分不同比例的PtRu合金纳米酶。类

酶催化活性研究表明, PtRu 合金纳米酶类 OXD (oxidase)、POD (peroxidase)、SOD、CAT 等活性与 Pt/Ru 比有关, 其中 Pt90Ru10 其活性最高。通过 XPS 实验发现合金化后 Pt 的电子结构发生改变, 可能有利于类酶催化, 改善催化活性。金属组元的数量对类酶催化活性也存在影响。

1.2 环境因素

1.2.1 pH和温度

天然酶的催化活性受限于 pH 值和温度。相较于天然酶, 纳米酶能够在更大的 pH 值和温度范围内保持催化活性。张欣等^[20]通过水热法制备了得二硫化钼纳米片 (molybdenum dioxide nanosheets, MoS₂ NSs), 研究发现, 当温度在 15~50℃ 之间变化时, 随着温度升高, 酶相对活性呈下降趋势, 说明低温有利于催化反应发生, 在 15~30℃ 时酶均可表现出较高的活性。同时研究了 pH 对酶活性的影响, 发现随着 pH 值的升高, 相对活性表现出先增大后减小的趋势, 当 pH=4.0 时酶的活性最高。王波等^[21]制备了一种具有过氧化物酶活性的锰单原子纳米酶 (f-MnNC), 可用于碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性, 研究表明, 在 pH=3.0~6.0 的范围内, f-MnNC 的催化活性随 pH 值增加而先增强后减弱, 在 pH=4.0~5.0 时均可以表现出较高的酶活性, 当 pH=4.4 时 f-MnNC 酶活性最高。在 20~60℃ 的温度范围内, f-MnNC 的催化活性随温度升高而先增强后减弱, 当温度在 40~60℃ 时可以保持较高活性, 最佳温度为 50℃。

1.2.2 环境介质

金属基纳米材料具有独特的物理性能, 可以受到光、声、电和磁等环境介质的影响, 进而影响这类酶的催化活性, 目前主要研究声、光、磁等外界环境对酶的催化活性, 外部光照可通过材料光热效应将反应温度调整至纳米酶的最佳反应温度附近, 或者光生热电子, 从而提升催化反应速率, Zhang 等^[22]制备出表面粗糙的 Au 纳米颗粒, 发现可基于其等离基元特性在光照下产生热电子从而加速 H₂O₂ 均裂, 且可在 Au 表面形成 OH⁻, 促进 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (tetramethylbenzidine, TMB) 氧化, 提升了 Au 纳米颗粒类 POD 的催化活性。Yang 等^[23]利用化学沉淀法制备出氧化石墨烯-四氧化三铁 (GO-Fe₃O₄) 纳米酶, 随后将药物盐酸阿霉素 (doxorubicin hydrochloride, DOX) 负载到 GO-Fe₃O₄ 复合物上形成 GO-Fe₃O₄-DOX 复合物, 该复合物在碱性条件下可以分散形成稳定的悬乳液, 而

在酸性条件下发生聚集。在外加磁场下, 可朝某个方向有规律地运动。基于该特性, GO-Fe₃O₄ 复合物载药后可实现药物的可控释放以及靶向递送。

研究发现, 许多金属离子可以增强纳米酶的酶促反应。金属离子作为辅因子可以稳定纳米酶的构象, 中和微环境中的阴离子, 降低反应的静电斥力, 传递电子加速反应。其中, 重金属汞离子 (Hg²⁺) 可以显著促进金基纳米酶的过氧化物酶样活性。Huang 等^[24]发现, 在没有其他离子存在的情况下, 柠檬酸盐覆盖的金纳米颗粒 (AuNPs) 具有较低的过氧化物酶样活性, 它可以缓慢地催化过氧化氢产生羟基自由基, 氧化 TMB。然而, 在 Hg²⁺ 存在下, 该纳米酶对 TMB 的氧化作用更为明显^[25]。另外, Wang 等^[26]在研究中发现, 将氮掺杂氧化石墨烯 (GO) 纳米颗粒在 Cu²⁺ 离子孵育, Cu²⁺ 离子能与氧化石墨烯表面的官能团结合形成 Cu²⁺-羧酸盐或混合 Cu²⁺-羧酸盐/胺配合物, 得到一种 Cu²⁺-GO 纳米复合物。这种 Cu²⁺-GO 纳米复合物具有辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 样的作用, 能够在 H₂O₂ 的存在下将多巴胺氧化为氨基色素。相比于未经修饰或经其他金属离子 (Ni²⁺、Co²⁺、Pd²⁺、Cd²⁺) 修饰的氧化石墨烯则对多巴胺氧化没有催化活性。基于这种重金属离子对纳米酶的不同作用, 探索在更多重金属离子影响下, 纳米酶类酶活性产生的多样性变化, 为纳米酶活性的可控调控提供了重要的研究实例。

一些有机小分子也会对纳米酶的活性产生影响。ATP 是一种有机的生物小分子, 作为生物体内细胞的能量“通货”, 在许多生理过程中发挥着重要的作用。此外, ATP 也可作为一种“辅助因子”来影响纳米酶的酶促反应。Lin 等^[27]通过将金纳米颗粒包裹在介孔硅 (Au-SiO₂) 中, 合成了一种具有过氧化物酶样活性的纳米酶。在生理温度 (37℃) 下, Au-SiO₂ 纳米酶能在 H₂O₂ 存在下有效催化过氧化物酶的显色底物 2,2'-氨基-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) (ABTS) 生成显色产物。然而, 在高温 (85℃) 条件下, Au-SiO₂ 纳米酶不能正常催化 ABTS 的显色反应。而在反应体系中引入 ATP 后, 从 25~85℃ 的不同梯度温度下, Au-SiO₂ 纳米酶均展现出良好的催化效果。由此可见, ATP 的存在, 使原本 Au-SiO₂ 纳米酶较窄的工作温度范围被大大拓宽。

DNA 作为一种生物聚合物, 具有明确的序列、可编程的自组装和特定的碱基配对规则。随着合成

化防御系统, 增强癌细胞的氧化应激作用。最近, MnO_2 涂层的介孔二氧化硅纳米颗粒 (MSN@MnO_2) 被报道用在基于自强化 Fenton 反应样的 CDT^[32]。MSN@MnO₂ 可使瘤内谷胱甘肽

(glutathione, GSH) 还原产生谷胱甘肽二硫和 Mn^{2+} 。随后, Mn^{2+} 的 Fenton 反应样作用在生理介质中分解 H_2O_2 产生 $\cdot\text{OH}$ 。研究表明, MSN@MnO_2 对人胚肾 293T 细胞的毒性低于人脑胶质瘤细胞 U87MG。在磁共振成像 (MRI) 指导下, MSN@MnO_2 通过诱导肿瘤间质内 GSH 消耗和 ROS 生成, 能够显著抑制肿瘤生长^[33]。

具有大孔隙率的 Mn 基纳米网络可能具有更高的 GSH 消耗和 ROS 生成能力。Wang 等^[34] 开发了一种具有高肿瘤特异性和消退能力的富含精氨酸的硅酸锰纳米气泡 (AMSNs), 这种材料具有良好的水分散性、生物相容性和肿瘤靶向作用, 其表面的精氨酸显著增强了纳米微泡在肿瘤内的聚集, 进而通过谷胱甘肽依赖性过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 途径消耗 GSH, 最终导致肿瘤细胞发生铁死亡。

众所周知, 癌细胞的迁移是导致癌症患者死亡的主要原因。Li 等^[35] 通过将超小锰铁氧体纳米颗粒 (UMFNPs) 与肿瘤靶向肽 CREKA 结合构建出一种超灵敏 T1 加权 MRI 造影剂 UMFNP-CREKA, 它能够实现超小乳腺癌转移的检测。锰铁氧体纳米颗粒在肿瘤微环境的低 pH 值条件下具有显著的类过氧化物酶活性, 通过与肿瘤周围丰富的纤维蛋白-纤维连接蛋白复合物结合再到肿瘤转移灶边缘, 催化 H_2O_2 产生 ROS, 进而释放锰离子 (Mn^{2+}) 到转移灶。 Mn^{2+} 的局部释放及其与蛋白质的相互作用影响 T1 加权 MRI 信号的显著放大, 实现对转移灶的显示。为了提高肿瘤治疗的特异性, Chen 等^[36] 在 $\text{K}_2\text{Mn}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (PBA) 纳米粒子上包覆 MIL-100, 开发了一种治疗性纳米剂 (PBAM) 的前体。在酸性肿瘤微环境中, PBAM 的 MIL-100 壳逐渐降解, 触发 Mn^{2+} 的释放, 通过离子交换解除空间限制, 使 PBAM 作为类过氧化物酶与细胞内 HCO_3^- 和 H_2O_2 反应产生 $\cdot\text{OH}$, 从而进行抗肿瘤的化学动力学治疗。

2.1.2 基于 Fe 的过氧化物酶样纳米酶

铁磁性纳米粒子 (Fe_3O_4 NPs) 已被证明具有过氧化物酶样活性。该特性已被用于分析物检测、肿瘤组织可视化以及肿瘤治疗等。利用这一活性, Fu 等^[37] 在添加低浓度 H_2O_2 的肿瘤治疗中发现, 在 Fe_3O_4 NPs 被内吞到 HeLa 细胞后, Fe_3O_4 NPs 通过 Fenton 反应催化细胞内 H_2O_2 分解产生 ROS, 从而对癌细胞产生杀伤作用。

此外, Wu 及其同事^[38] 设计了一种利用聚乙

二醇化纳米粒子与 α 环糊精包合的磁性水凝胶纳米酶用于协同肿瘤治疗。在肿瘤的酸性环境中, Fe_3O_4 纳米酶的过氧化物酶样活性可以通过 Fenton 反应产生 $\cdot\text{OH}$ 用于肿瘤的化学动力学治疗, 同时可以在交变磁场中通过磁热机制产生热, 起到协同肿瘤治疗作用。

2.1.3 基于 Au 或 Ag 的过氧化物酶类纳米酶

截至目前, 许多稀有金属已被证明具有类似过氧化物酶的性质。Ye 等^[39] 成功地制备了薄的二维金纳米海藻 (AuNSWs), 较大的表面积和只有两个原子层的超薄特性使其具有很多暴露的催化活性位点, 表现出了显著的催化性能, 可以还原 4-硝基酚和降解 H_2O_2 。研究发现, Au@Ag 异质纳米棒 (NRs) 具有较高的催化活性, 在接近中性的 pH 和较宽的温度范围内可以作为过氧化物酶类似物。 Au 和 Ag 的合金化导致的电子结构的变化, 提高了 Au@Ag 异质纳米棒 (NRs) 的活性, 使其在催化过程中获得更好的性能^[40]。

低浓度的银纳米颗粒 (AgNPs) 可以破坏病原体的关键膜蛋白, 破坏线粒体呼吸链, 因此 AgNPs 可以基于 Ag^+ 的低动力学释放用于抗菌应用^[41]。此外, 银离子也能够催化类 Fenton 反应, Duan 等^[42] 发现了一种基于 Ag NPs 的新型催化纳米系统 ($\text{Ag NPs-TAMRADNA@GO}$)^[42], 该系统是以荧光猝灭 DNA 探针 (TAMRA-DNA) 为模板制备 Ag NPs , 然后通过氧化石墨烯纳米片上自组装得到的。 Ag NP 催化的 Fenton 样反应有助于 TAMRA-DNA 的裂解, 从而实现对肿瘤的实时成像和 CDT 过程的监测。同时, 基于 Ag NP 的 CDT 纳米系统对富含 H_2O_2 的肿瘤显示出高度的特异性, 为追踪细胞内 H_2O_2 和肿瘤治疗提供了潜在的可行性^[43]。

2.1.4 基于碳的过氧化物酶样纳米酶

具有过氧化物酶样活性的氮化碳纳米片 ($\text{g-C}_3\text{N}_4$ 纳米片) 因其在可见光下具有出色的光催化能力而备受关注。通过将 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 与 AuNPs ($\text{g-C}_3\text{N}_4@\text{AuNPs}$, CNA) 结合, Sun 等^[44] 在生物耐受的 H_2O_2 水平上实现了耐药细菌和其生物膜的根除。由于单链 DNA 可以增强纳米酶的过氧化物酶样活性^[45], Li 等^[46] 将 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 纳米片与 CD63 特异性结合的 ssDNA 适配体结合, 开发了一种新型的杂合纳米酶, 实现了 TMB 氧化细胞外囊泡的检测功能。

2.1.5 基于Cu的过氧化物酶样纳米酶

近年来,肿瘤微环境(tumor micro-environment, TME)介导的Fenton反应在肿瘤治疗中得到了广泛的研究。有研究发现,Cu²⁺在中性和弱酸性条件下参与Fenton反应的效率较高,可以达到Fe²⁺/Fe³⁺的160倍,具有作为类Fenton反应催化剂的巨大潜力^[47]。

Lin等^[48]在OH⁻的辅助下开发了Cu²⁺和H₂O₂配位的过氧化铜纳米点(CPNs)。CPNs在含OH⁻介质中表现出良好的稳定性,但在细胞内吞后的弱酸性环境中可被分解,促进Cu²⁺和H₂O₂释放,导致·OH诱导的肿瘤细胞脂质过氧化和凋亡。此外,小颗粒CPNs静脉给药后在肿瘤中蓄积程度高、穿透深度深,为增加细胞内H₂O₂以增强CDT提供了新的渠道。研究显示,CPNs在剂量为10 mg/kg时会显著抑制U87MG肿瘤生长。

Wen等^[49]发现的Cu_{2-x}Te NEs具有两种类酶活性(谷胱甘肽氧化酶(GSHOx)和过氧化物酶),可分别促进GSH的消耗和ROS的生成,在NIR-II光照射下可以逆转免疫抑制的肿瘤微环境。Chen等^[50-51]发现,Cu²⁺-NMOFs能够模拟NADH过氧化物酶,催化二氢烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)氧化为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺),可用于开发探测葡萄糖或NADH等物质的传感器。Ma等^[52]通过Cu²⁺和半胱氨酸的自组装,制备了用于化学动力学治疗的铜-氨基酸巯基纳米颗粒(Cu-CysNPs)。Cu-CysNPs可以消耗谷胱甘肽(GSH)并产生Cu⁺,Cu⁺将进一步催化H₂O₂生成·OH,用于癌症治疗。

2.1.6 其他

由于抗生素耐药性的出现,细菌感染引起了极大的关注。近年来,提高H₂O₂的抗菌活性,并减少其使用量是伤口消毒的要求。所以,在提高H₂O₂抗菌性能的同时,避免高水平H₂O₂引起的毒性已成为治疗中的一个明显问题。因此,越来越多的具有类过氧化物酶性质的新型抗菌纳米材料相继出现。其中,铂基纳米晶体的形状、尺寸、形态和结构控制良好,因此在催化过程中得到了广泛的应用。Wu等^[53]成功地开发了Pt空心纳米枝晶,由于最大限度地利用了Pt原子和高折射率晶面,这些纳米枝晶表现出了优异的过氧化物酶样活性,并在较大的温度范围内均表现出催化活性,证明其具有良好的热稳定性。

2.2 过氧化氢酶

过氧化氢酶是一类广泛存在于动物、植物和微

生物体内的天然氧化酶,是生物体内H₂O₂和活性氮代谢的关键酶,构成了生物体内抗氧化酶体系内的重要组分。其能够以H₂O₂为底物,分解产生水和氧气^[54]。其调节ROS平衡的机制可见图3。

癌细胞的特征是ROS的增加和抗氧化酶谱的表达改变,使癌细胞对氧化剂更加敏感,为肿瘤的氧化治疗提供了思路。但是多种促氧化疗法(如光动力疗法、声动力疗法等)依赖于较高的氧气浓度,其应用受到肿瘤微环境缺氧条件的限制。在这种情况下,利用过氧化氢酶类纳米酶解决肿瘤缺氧是一种治疗癌症的新方法^[55]。

2.2.1 基于Mn的过氧化氢酶样纳米酶

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)和放射疗法是严重受O₂影响的肿瘤治疗方法,肿瘤缺氧对其有一定的限制^[56]。因此,构建一种产氧剂-光敏剂复合的治疗体系,在光动力治疗的同时实现氧气生成,进而产生更多的细胞毒性ROS来增强PDT迫在眉睫。Wang等^[57]设计了一种介孔纳米酶(MnCoO-PDA-PEG),该介孔结构为纳米酶MnCoO和光敏剂Ce6负载提供了大量的活性位点,可以催化内源H₂O₂分解,有效地生成O₂,缓解肿瘤缺氧的作用,显著提高PDT效果。Qu等^[58]以Ce6为光敏剂、MnO₂为类过氧化氢酶合成了PPy@MnO₂-BSA(牛血清白蛋白稳定二氧化锰(MnO₂)/PPy),该复合材料体系可以在肿瘤微环境中持续分解H₂O₂产生氧气,缓解肿瘤缺氧情况并实现氧气增强的PDT治疗。Liu等^[59]制备了与上述纳米酶功能类似的纳米平台(R-MnO₂-FBP),实现氧气自给自足以增强PDT治疗效果。R-MnO₂-FBP经过EPR效应(高渗透性和滞留效应)进入肿瘤细胞后,在富含H₂O₂的肿瘤微环境中分解H₂O₂,产生的氧气可进一步用于增强PDT治疗效果。在Zhang等^[60]的研究中,一种介孔二氧化锰纳米颗粒被构建为原位产氧材料,以缓解肿瘤缺氧状况。MnO₂纳米颗粒催化H₂O₂在肿瘤部位产生氧气,迅速消耗内源性葡萄糖,切断肿瘤细胞的能量供应进行癌症饥饿治疗,增强ROS的生成。

缺氧是肿瘤增殖的关键调控因子之一,缺氧诱导因子1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是缺氧引起的肿瘤标志物,在肿瘤缺氧区域表达上调。HIF-1与肿瘤增殖分化、代谢以及血管新生也密切相关,高活性的HIF-1可诱导肿瘤对放疗产生耐药性^[61]。Meng等^[62]制备了一种结合了亲水性阳离子吡啶黄(acriflavine, ACF)与MnO₂ NPs

(ACF@MnO₂ROS)的新型响应型纳米平台,该纳米颗粒在肿瘤组织内聚集后,可被肿瘤细胞有效内吞,主要位于溶酶体内。一旦在酸性条件下与H₂O₂发生反应,纳米颗粒将产生氧气以缓解缺氧微环境,并实现直接辐射敏化。同时释放出来的ACF会逐渐转移到细胞核内,抑制缺氧诱导因子1(HIF-1 hypoxia inducible factor-1)的转录功能,协同HIF-1下游信号分子(如PD-L1)抑制异位瘤的增殖。

2.2.2 基于Fe的过氧化氢酶样纳米酶

除Mn²⁺外,Fe³⁺也是一种常见的抑制肿瘤缺氧的金属离子,氧化铁可作为催化剂显著加速H₂O₂在中性和碱性环境中分解为水和氧的速度。Yin等^[63]开发了一种具有类似过氧化氢酶和类似谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GPx)的活性的MnFe₂O₄@MOF核壳纳米平台,该纳米平台一旦内化到肿瘤中,就可以通过循环Fenton反应持续催化H₂O₂产生O₂来克服肿瘤缺氧,同时MnFe₂O₄@MOF也能够H₂O₂存在的情况下更高效地消耗谷胱甘肽(glutathione, r-glutamyl cysteinyl+glycine, GSH),而GSH含量的降低是一种潜在的凋亡早期激活信号,与产生的氧自由基共同促使细胞发生凋亡^[63]。

2.2.3 基于铈(Ce)的过氧化氢酶样纳米酶

二氧化铈纳米材料,由于其纳米尺寸下具有较多的氧空位,可以实现Ce³⁺和Ce⁴⁺的可逆转化,产生催化效应,催化H₂O₂分解为水和氧气。张玉涛^[64]合成了PAH(烯丙胺·盐酸)修饰的二氧化铈纳米管(PAH-CNT),在含有过氧化氢和酸性环境下,ABTS能够被氧化生成在近红外区具有较强吸收作用的ABTS自由基,产生光热效应。含有过氧化氢和酸性环境两者均是ABTS自由基产生的必要条件,故在搭载ABTS后形成的ABTS@PAH-CNT可以对肿瘤细胞产生选择性的光热效应。Jiang等^[65]利用Ce元素(Ce(IV),Ce(III))和CuS纳米颗粒合成了纺锤状CuS@CeO₂纳米颗粒。CeO₂作为纳米酶催化内源性H₂O₂转化为O₂,满足了PTT(光热治疗)/RT(放射治疗)治疗时对较高浓度氧气的需求,其纺锤状结构可增强其穿透肿瘤和随后被癌细胞内化的能力,有利于在实体肿瘤中的运输和进一步的细胞摄取。

2.2.4 基于Pd的过氧化氢酶样纳米酶

Sun等^[66]通过Pd@Pt纳米板与中-四(4-羧基苯基)卟啉(T790)桥接制备了超声响应的

Pd@Pt-T790纳米酶。在正常条件下,T790修饰Pd@Pt可以阻断Pd@Pt的过氧化氢酶样活性;而在超声作用下,Pd@Pt-T790的过氧化氢酶活性恢复,产氧能力增强。该现象可能是由于超声促进了H₂O₂的扩散,增加了H₂O₂与Pd@Pt的相互作用,使纳米酶活性被有效地恢复。这种由超声触发的酶活性具有良好的疾病位点特异性和时空可控性,能够实现肿瘤的精准治疗并降低对正常组织的损伤。Dai等^[67]构建了一种集成铂纳米酶和光敏剂的MOFs纳米平台,MOFs可以有效阻止相邻铂纳米颗粒的聚集,从而保证了铂纳米酶的稳定性和过氧化氢酶样活性。该纳米平台可以通过分解H₂O₂产生O₂来提高PDT在肿瘤缺氧部位的治疗效率。

2.2.5 其他

Ge等^[68]使用ESR血氧法测量了O₂的产生,验证了钼八面体比钼纳米晶体具有更高的过氧化氢酶样活性。Feng等^[69]制备了一种二维(2D)碳化钒(V(2)C)MXene纳米酶(mx酶),可以模拟包括过氧化氢酶在内的6种自然产生的酶。Xu等^[70]合成了聚乙烯吡咯烷酮改性二硫化钨(WS(2)-PVP)纳米花,WS(2)-PVP纳米花不仅在体内外均具有良好的生物相容性,还有模拟过氧化氢酶的能力。这些具有过氧化氢酶样高活性的纳米酶都可能对肿瘤的治疗有积极的作用。

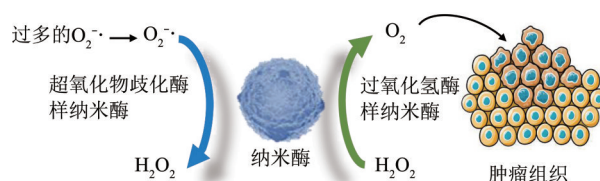


Fig. 3 Mechanisms of catalase and superoxide dismutase-like nanozyme regulating ROS balance

图3 过氧化氢酶样纳米酶和超氧化物歧化酶样纳米酶调节ROS平衡

2.3 超氧化物歧化酶(SOD)

SOD是生物体系中抗氧化酶系的重要组成成员,是机体内超氧自由基的天然清除剂。在正常情况下,机体内SOD与超氧自由基保持动态平衡。但在病理状态下,机体内产生过量的超氧自由基破坏动态平衡,此时机体本身产生的SOD不能完全清除过多的超氧自由基,引起生物系统中严重的氧化应激,导致细胞生物分子的损伤和各种疾病的发生。

生。研究表明,利用具有SOD样特性的纳米酶以选择性调节细胞内ROS水平,可以保护正常细胞免受ROS威胁并减缓细胞功能退化。

2.3.1 基于Fe的超氧化物歧化酶样纳米酶

普鲁士蓝纳米颗粒(PBNPs)可作为多酶模拟剂和活性氧清除剂,Zhang等^[71]采用氧化低密度脂蛋白、高葡萄糖含量和再灌注等方法建立了一系列体外ROS生成模型,在小鼠体内建立了脂蛋白炎症模型,并证明了PBNPs在上述病理过程中具有抑制或缓解ROS损伤的潜力。Zhou等^[72]制得了具有清除活性氧酶活性的典型普鲁士蓝类似物(FeCo-PBA NPs),证实了其在细胞生长中的积极作用,这为生物技术应用中建立控制细胞的机制提供了新的途径。

2.3.2 基于Mn的超氧化物歧化酶样纳米酶

锰基纳米材料具有类超氧化物歧化酶等多种特性。其中Mn₃O₄纳米酶已被证实具有SOD样活性,可治疗由ROS引起的神经障碍的潜力。在急性缺血性脑卒中,溶栓前的缺氧和溶栓后的增氧均可导致自由基水平升高,导致神经细胞受到持续损伤,因而在治疗中需要清除自由基,调节缺氧和促氧微环境。Shi等^[73]设计出工程纳米海绵(Mn₃O₄@nanoerythrocyte-T7, MNET),通过自适应调节氧和清除自由基来重塑中风时的微环境。借助红细胞的隐匿作用和T7肽的辅助作用,MNET在血液中的循环时间得以延长,可在溶栓前通过快速清除自由基和及时供氧挽救神经细胞,在溶栓后通过储氧抑制促氧,清除自由基以避免再灌注损伤。

2.3.3 其他

Sun等^[74]通过组装蛋白质,成功设计并制备出含硒纳米酶。凭借固有的类似谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的特性,该纳米酶可以通过Se纳米成分分解H₂O₂,产生无毒产物谷胱甘肽,作为抗氧化剂保护线粒体免受ROS的伤害。Guo等^[75]利用二维过渡金属硫化物(TMCs)纳米片和聚乙二醇(PEG)合成了Mo₃Se₄纳米片(PMNFs)。该纳米片具有SOD等多种酶活性,对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎具有抑制氧化损伤、炎症和肠屏障破坏的作用。其作用机制主要是通过抑制TLR4/NF- κ B通路以逆转DSS诱导的氧化损伤,减缓DSS引起的上皮细胞凋亡,激活抗氧化通路Nrf2-keap1信号,阻止紧密连接蛋白(ZO-1、occludin和claudin-1)和黏蛋白2(muc2)的减少。

铂纳米颗粒同样具有出色的催化性能,Zhang等^[76]用铁蛋白包裹铂纳米颗粒,使其在具备类SOD活性的同时具有更强的稳定性。

2.4 氧化酶

氧化酶是过氧化物酶体中的主要酶类,可氧化多种底物。在生物体内存在多种氧化酶,如胆碱氧化酶,也称胆碱酯酶,主要存在于胆碱能神经末梢突触间隙,可水解乙酰胆碱,避免因乙酰胆碱过剩后集聚引起的胆碱能神经过度兴奋。细胞内NADH(还原型辅酶I)产生于糖酵解和细胞呼吸作用中的柠檬酸循环,可作为生物氢的载体和电子供体,在线粒体内膜上参与氧化磷酸化过程,转移能量,供给ATP合成,在维持细胞生长、分化和能量代谢以及细胞保护方面起着重要作用。

评估血清中葡萄糖的氧化程度能够定量测定其中肌红蛋白的浓度水平,而临床常以肌红蛋白作为准确诊断心肌梗死的生物标志物。Zhang等^[77]研究设计了一种由捕获抗体修饰的玻璃碳电极和检测抗体偶联的CuS-MoS₂组成的“信号”电化学免疫传感器系统,其中CuS-MoS₂部分可将电化学检测液中的葡萄糖氧化,进而对肌红蛋白进行定量检测,该系统的应用可能在心肌梗死诊断中发挥作用。

近年来,癌症饥饿治疗作为一种新型肿瘤治疗手段被广泛研究。葡萄糖氧化酶(GOx)作为一种在葡萄糖饥饿疗法中发挥作用的治疗剂,可在氧气的参与下催化癌细胞内的葡萄糖水解为葡萄糖酸和过氧化氢,减弱糖酵解及核苷酸、脂质和氨基酸等中间代谢物的产生,切断癌细胞所需的各种必需成分的供应,同时提高肿瘤环境的缺氧程度与酸度,抑制肿瘤增殖。由于GOx具有不稳定性和易失活性,易被体内存在的大量蛋白酶诱导而水解或失活,Wang等^[78]将阳离子聚合物聚(N,N'二甲氨基-2-甲基丙烯酸乙酯,PDMA)定点引入GOx的N末端,以生成具有良好保留活性和稳定性的GOx-PDMA复合物,避免了其他基团随机修饰引起的活性降低,使Gox的活性保持在90.7%。将该缀合物及GOx分别注射至结肠癌小鼠模型的肿瘤内部之后,复合物的耐受性相比游离GOx增加了5倍,细胞毒性增加了1.5倍,肿瘤保留率增加了2倍,可完全消除肿瘤。

2.5 水解酶

水解酶是催化水解反应的一类酶的总称,例如,它们可以水解核苷酸和磷酸基团。胶原蛋白是

存在于肿瘤细胞外基质中的一种蛋白质,它能够阻碍抗肿瘤药物对肿瘤组织的浸润、降低治疗效果。Li等^[79]使用两亲性半导体聚合物和菠萝蛋白酶(Bro)合成了一种具有光热效应的半导体聚合物纳米酶(PCB1-Bro)。在近红外光的照射下,半导体聚合物通过光热机制产热,升高局部组织温度,激活温度敏感的菠萝蛋白酶,进而能有效地消融肿瘤细胞外基质中的胶原蛋白,实现了可控的酶活性激活效果,降低了全身副作用并增强了纳米颗粒对肿瘤的穿透和滞留。

Lin等^[80]以一次性口罩(disposable face masks, DFMs)作为金属离子Pb(II)、Cd(II)和Sr(II)的载体,通过老化及金属吸附过程中发生的一系列的原子转移,展示了DFMs水解酶的特性。在紫外线辐射的诱导作用下,DFMs的碳氢键断裂并与氧反应形成过氧自由基(ROO•),后进一步吸收空气中的氢原子,最终形成过氧化氢基团(RCOOH),实现DFMs的老化。老化DFMs表面存在的过氧化氢基团作为电子供体结合金属,通过

络合作用使得DFMs表面出现更多的金属离子。

Li等^[81]通过微调金属团簇的路易斯酸度(Lewis acid)以提高水解纳米酶的固有活性,并提供缩短配体长度以提高其活性位点的密度,最终筛选和预测出MOF(金属-有机框架)基水解纳米酶的催化活性位点,成功设计了基于Ce-FMA-MOF的水解纳米酶。该纳米酶能够切割磷酸键、酰胺键、糖苷键甚至生物膜,水解底物的效率很高。这是因为未活化的Ce-FMA即使在不使用助催化剂的情况下也可表现出优异的磷酸酶样活性,其次是Ce-FMA对牛血清白蛋白(BSA)具有较高的水解活性,其水解效率是多功能Zr基MOF-808的12.7倍。除此以外,该纳米酶还可推断非生物活性位点,而不是局限于直接修饰天然活性位点,以带来新的裂解位点,扩大多肽的多样性,增加获得活性多肽的可能性。

表1列举总结了不同类型的纳米酶在体内外的应用。

Table 1 Summary of the types and applications of the major nanozymes

表1 主要的纳米酶种类和应用总结

种类	模拟酶	应用	参考文献
Mn基			
MSN@MnO ₂	过氧化物酶	肿瘤治疗	[32]
AMSNs	过氧化物酶	肿瘤治疗	[34]
MnCoO-PDA-PEG	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[57]
PPy@MnO ₂ -BSA	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[58]
R-MnO ₂ -FBP	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[59]
ACF@MnO ₂	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[62]
Mn ₃ O ₄ @nanoerythrocyte-T7	过氧化氢酶和超氧化物歧化酶	缺血性卒中治疗	[73]
Fe基			
Fe ₃ O ₄ NPs	过氧化物酶	前列腺癌检测	[37]
PBNPs	过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶	保护细胞免受氧化应激	[71]
Fe基、Mn基			
UMFNP-CREKA	过氧化物酶	超小乳腺癌转移的检测	[35]
PBAM	过氧化物酶	肿瘤治疗	[36]
MnFe ₂ O ₄ @MOF	过氧化氢酶和过氧化物酶	肿瘤治疗	[63]
Cu基			
CPNs	过氧化物酶	肿瘤治疗	[48]
Cu ²⁺ -NMOFs	NADH过氧化物酶	葡萄糖或NADH检测	[50-51]
Cu-Cys	过氧化物酶	肿瘤治疗	[52]
CuS@CeO ₂	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[65]
CuS-MoS ₂	葡萄糖氧化酶	心血管疾病中肌红蛋白的电化学免疫分析法	[77]
Cu2@xTe NPs	谷胱甘肽氧化酶和过氧化物酶	肿瘤治疗	[49]

续表1			
种类	模拟酶	应用	参考文献
Au基、Ag基			
AuNSWs	过氧化物酶	催化、传感器和生物医学	[39]
Ag NPs-TAMRADNA@GO	过氧化物酶	肿瘤监测	[42]
AgNPs	过氧化物酶	抗菌应用	[41]
其他			
C基 (GO/AuNP hydrogels)	过氧化物酶	葡萄糖检测	[44]
Pd基 (Pd@Pt-T790)	过氧化氢酶	抗炎症感染	[66]
Pt基 (Pt hollow nanodendrites)	过氧化物酶	抗菌感染	[53]
Se基 (PMNFs)	超氧化物歧化酶	抑制氧化损伤、炎症和肠屏障破坏	[75]
Ce基 (PAH-CNt)	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[64]
钼八面体钼纳米晶体	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[68]
mx 酶	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[69]
WS(2)-PVP	过氧化氢酶	肿瘤治疗	[70]
Gox-PDMA	氧化酶	肿瘤治疗	[78]
PCB1-Bro	水解酶	肿瘤治疗	[79]

3 总结与展望

本文总结了近年来纳米酶的最新研究进展。目前已经成功地设计出来的纳米酶，能够模拟大多数关键的天然酶（POD、CAT、SOD、氧化酶和水解酶），相比于天然酶，纳米酶具有性能稳定、尺寸可调、制备简单等优点，其应用也已经涉及到生物化学、生命科学和医学的许多领域，包括生物检测和抗炎、抗氧化损伤和癌症治疗。

虽然纳米酶在疾病治疗与诊断方面取得了一定的研究进展，但仍存在一部分问题。a. 纳米酶对于底物选择性较差，导致纳米酶催化特异性较差，因此纳米酶的催化速率难以达到体内天然酶的水平。b. 目前，纳米酶催化的反应类型已经从氧化还原扩展到水解等。但范围仍然不够宽，对于裂解酶等其他酶的研究较少，不足以覆盖所有重要的酶促反应^[82]。c. 部分纳米酶材料为重金属，生理条件下可能分解出重金属离子，材料本身的毒性以及清除率限制了其应用。d. 目前基于纳米酶的诊断方法主要是通过纳米酶表面修饰抗体、多肽、小分子或者适配体等靶向分子，赋予其靶向性，从而特异性地识别待检物质。然而，这种方法会存在一些非特异性吸附的情况^[83]，使得探针的特异性降低，而且操作步骤比较繁琐，增加了临床转化的难度。e. 不同的纳米酶在抗肿瘤过程中可能具有协同作用。f. 目前仍缺乏不同类型的纳米酶催化体系的建立，纳米酶的催化机制多种多样，具有多种酶活性

的纳米酶的分子机制尚不清楚。因此构建具有多种功能、良好生物相容性、高靶向效率的纳米酶系统仍是一个亟待解决的问题^[84]。

未来用于体内生物应用的纳米酶也有很广阔的前景：进一步提高纳米酶的催化效率会使其在各方面的应用率大幅提升。当然，拥有高催化效率的同时，纳米酶的选择性和特异性也是一个创新突破口，其目的是为了有效的避免纳米酶在应用中由于未知反应而引起的意外毒性，从而确保未来纳米酶拥有优良的安全性能，为了解决这一问题，合理设计的可控纳米酶对于实现其对各种疾病的酶模拟活性的高特异性具有重要意义。目前已有研究表明，一些外源性刺激，如光和超声等，可以作为控制纳米酶活化的触发器，这些可行性手段也为开发具有更高特异性纳米酶提供了更广泛的思路^[85]。另外，相信仍然有一些更实用、更安全的纳米酶及其催化机制未被发现，随着纳米酶的巨大发展，希望看到更多的实际应用，如药物传递、靶向、免疫和治疗干预等领域，甚至一些生物医学设备。不仅是生物医学，还有环境、农业、法医学，甚至国家安全领域，这些方面都非常具有前景。例如，纳米酶也涉及到新型冠状病毒感染（COVID-19）的治疗与诊断，包括用于快速诊断的纳米孔测序和用于传递 mRNA 疫苗的脂质纳米颗粒载体；纳米酶作为精确的生物传感器，可以检测 500 mg/L 人血清病毒的存在^[86]。因此，纳米酶的研究对未来全球抗击 COVID-19 和远期未知的某种新型流行病并保护人

类健康来说是一个有前途的工具,有待进一步探究。另外,纳米酶的广阔前景还体现在肿瘤治疗上,纳米酶一方面可以利用肿瘤微环境内的特征信号如低氧浓度、微环境的pH值等作为内源性刺激,另一方面可以利用外部信号如声、光、磁、热等信号作为外源性刺激从而激活其活性^[87],理想的纳米酶是应该在特定的位点起作用,因此,具有特定细胞或细胞器靶向能力的纳米酶将更有利于其发挥作用,同时也可以预防全身毒性作用,从而在肿瘤的治疗上发挥里程碑式的作用。对于生物检测,纳米酶在大规模临床使用中的一个主要挑战就是缺乏规范化的标准。不同的技术和测量途径与方法,不同的应用领域,不同的操作实验室可能导致测量结果的变化,这种标准化便是纳米酶检测投入大规模实际应用的一大保证。最后,鉴于纳米酶在疾病治疗与诊断中的良好效果,未来让纳米酶不止局限于实验室,而是更多工艺化、生产化、规模化、标准化的纳米酶产品走出实验室,走向市场,更好地服务于人类健康与提高生活品质,就需要催化效率更高,副作用更少,治疗效果更特异,覆盖领域更广的纳米酶出现。

参 考 文 献

- [1] Wolfenden R, Snider M J. The depth of chemical time and the power of enzymes as catalysts. *Acc Chem Res*, 2001, **34**(12): 938-945
- [2] Stodulski M, Gulder T. Nanoparticles and peptides: a fruitful liaison for biomimetic catalysis. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, **51**(45): 11202-11204
- [3] Breslow R. Biomimetic chemistry and artificial enzymes: catalysis by design. *Acc Chem Res*, 1995, **28**: 146-153
- [4] Jiang D, Ni D, Rosenkrans Z T, *et al.* Nanozyme: new horizons for responsive biomedical applications. *Chem Soc Rev*, 2019, **48**: 3683-3704
- [5] Wei H, Wang E. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chem Soc Rev*, 2013, **42**(14): 6060-6093
- [6] Ahmed S, Ikram S. Biosynthesis of gold nanoparticles: a green approach. *J Photochem*, 2016, **161**: 141-153
- [7] Luo W, Zhu C, Su S, *et al.* Self-catalyzed, self-limiting growth of glucose oxidase-mimicking gold nanoparticles. *ACS Nano*, 2010, **4**(12): 7451-7458
- [8] Kalantari M, Ghosh T, Liu Y, *et al.* Highly thiolated dendritic mesoporous silica nanoparticles with high-content gold as nanozymes: the nano-gold size matters. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(14): 13264-13272
- [9] Valden M, Lai X, Goodman D W. Onset of catalytic activity of gold clusters on titania with the appearance of nonmetallic properties. *Science*, 1998, **281**(5383): 1647-1650
- [10] Tian T, Ai L, Liu X M, *et al.* Synthesis of hierarchical few-layer architectures with {100}-faceted nanosheet assemblies as a robust biomimetic catalyst. *Ind Eng Chem Res*, 2015, **54**(4): 1171-1178
- [11] Singh N, Savanur M A, Srivastava S, *et al.* A redox modulatory Mn₃O₄ nanozyme with multi-enzyme activity provides efficient cytoprotection to human cells in a Parkinson's disease model. *Angew Chem*, 2017, **129**(45): 14455-14459
- [12] Gao Z Q, Lv S Z, Xu M D, *et al.* High-index {hk0} faceted platinum concave nanocubes with enhanced peroxidase-like activity for an ultrasensitive colorimetric immunoassay of the human prostate-specific antigen. *Analyst*, 2017, **142**(6): 911-917
- [13] Liu B, Liu J. Surface modification of nanozymes. *Nano Res*, 2017, **10**(4): 1125-1148
- [14] Li J, Xie C, Huang J, *et al.* Semiconducting polymer nanozymes with photothermic activity for enhanced cancer therapy. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, **57**(15): 3995-3998
- [15] Fan K, Wang H, Xi J, *et al.* Optimization of Fe₃O₄ nanozyme activity via single amino acid modification mimicking an enzyme active site. *Chem Comm (Camb)*, 2016, **53**(2): 424-427
- [16] 吴鹏, 陈诚, 赵雪伶, 等. 纳米材料模拟酶应用进展. *材料工程*, 2022, **50**(2): 62-72
- [17] Wu P, Chen C, Zhao X L, *et al.* *J Mater Eng*, 2022, **50**(2): 62-72
- [17] Liu H, Ding Y N, Yang B, *et al.* Iron doped CuSn (OH) 6 microspheres as a peroxidase-mimicking artificial enzyme for H₂O₂ colorimetric detection. *ACS Sustain Chem Eng*, 2018, **6**(11): 14383-14393
- [18] Chen Y, Hou S. Application of magnetic nanoparticles in cell therapy. *Stem Cell Res Ther*, 2022, **13**(1): 135
- [19] Liu C, Yan Y Y, Zhang X W, *et al.* Regulating the pro- and anti-oxidant capabilities of bimetallic nanozymes for the detection of Fe(2+) and protection of Monascus pigments. *Nanoscale*, 2020, **12**(5): 3068-3075
- [20] 张欣, 高艳芳. 基于二硫化钼纳米酶的比色法检测过氧化氢. *分析化学*, 2022, **50**(10): 1491-1501
- [20] Zhang X, Gao Y F. *Chinese J Anal Chem*, 2022, **50**(10): 1491-1501
- [21] 王波, 张续东, 康革, 等. 锰单原子纳米酶比色法检测碱性磷酸酶活性. *分析化学*, 2022, **50**(1): 54-63
- [21] Wang B, Zhang J D, Kang G, *et al.* *Chinese J Anal Chem*, 2022, **50**(1): 54-63
- [22] Zhang Y, Villarreal E, Li G G, *et al.* Plasmonic nanozymes: Engineered gold nanoparticles exhibit tunable plasmon-enhanced peroxidase-mimicking activity. *J Phys Chem Lett*, 2020, **11**(21): 9321-9328
- [23] Yang X, Zhang X, Ma Y, *et al.* Superparamagnetic graphene oxide/Fe₃O₄ nanoparticles hybrid for controlled targeted drug carriers. *J Mater Chem*, 2009, **19**(18): 2710-2714
- [24] Huang H, Quan Y Y, Wang X P, *et al.* Gold nanoparticles of diameter 13 nm induce apoptosis in rabbit articular chondrocytes. *Nanoscale Res Lett*, 2016, **11**(1): 249
- [25] Long Y J, Li Y F, Liu Y, *et al.* Visual observation of the mercury-stimulated peroxidase mimetic activity of gold nanoparticles.

- Chem Comm (Camb), 2011, **47**(43): 11939-11941
- [26] Wang S, Cazelles R, Liao W C, *et al.* Mimicking horseradish peroxidase and NADH peroxidase by heterogeneous Cu²⁺-modified graphene oxide nanoparticles. Nano Lett, 2017, **17**(3): 2043-2048
- [27] Lin Y, Huang Y, Ren J. *et al.* Incorporating ATP into biomimetic catalysts for realizing exceptional enzymatic performance over a broad temperature range. NPG Asia Mater, 2014, **6**: e114
- [28] Eckardt L H, Naumann K, Pankau W M, *et al.* DNA Nanotechnology: chemical copying of connectivity. Nature, 2002, **420**(6913): 286
- [29] Liu B, Liu J. Accelerating peroxidase mimicking nanozymes using DNA. Nanoscale, 2015, **7**: 13831-13835
- [30] Zhang L, Qi Z, Zou Y, *et al.* Engineering DNA-nanozyme interfaces for rapid detection of dental bacteria. ACS Appl Mater Interfaces, 2019, **11**(34): 30640-30647
- [31] Gao L, Zhuang J, Nie L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. Nat Nanotechnol, 2007, **2**(9): 577-583
- [32] Lin L S, Song J, Song L, *et al.* Simultaneous fenton-like ion delivery and glutathione depletion by MnO₂-based nanoagent to enhance chemodynamic therapy. Angew Chem Int Ed Engl, 2018, **57**(18): 4902-4906
- [33] Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach. Nat Rev Drug Discov, 2009, **8**(7): 579-591
- [34] Wang S, Li F, Qiao R, *et al.* Arginine-rich manganese silicate nanobubbles as a ferroptosis-inducing agent for tumor-targeted theranostics. ACS Nano, 2018, **12**(12): 12380-12392
- [35] Li Y, Zhao X, Liu X, *et al.* A bioinspired nanoprobe with multilevel responsive T1-weighted MR signal-amplification illuminates ultrasmall metastases. Adv Mater, 2020, **32**(4): e1906799
- [36] Chen Y, Li Z H, Pan P, *et al.* Tumor-microenvironment-triggered ion exchange of a metal-organic framework hybrid for multimodal imaging and synergistic therapy of tumors. Adv Mater, 2020, **32**(24): e2001452
- [37] Fu S, Wang S, Zhang X, *et al.* Structural effect of Fe₃O₄ nanoparticles on peroxidase-like activity for cancer therapy. Colloids Surf B, 2017, **154**: 239-245
- [38] Wu H, Liu L, Song L, *et al.* Enhanced tumor synergistic therapy by injectable magnetic hydrogel mediated generation of hyperthermia and highly toxic reactive oxygen species. ACS Nano, 2019, **13**(12): 14013-14023
- [39] Ye S, Brown A P, Stammers A C, *et al.* Sub-nanometer thick gold nanosheets as highly efficient catalysts. Adv Sci (Weinh), 2019, **6**(21): 1900911
- [40] Han L, Li C, Zhang T, *et al.* Au@Ag heterogeneous nanorods as nanozyme interfaces with peroxidase-like activity and their application for one-pot analysis of glucose at nearly neutral pH. ACS Appl Mater Interfaces, 2015, **7**(26): 14463-14470
- [41] Fu W, Zhou W, Chu P K, *et al.* Inherent chemotherapeutic anticancer effects of low-dimensional nanomaterials. Chem Eur J, 2019, **25**(47): 10995-11006
- [42] Duan L Y, Wang Y J, Liu J W, *et al.* Tumor-selective catalytic nanosystem for activatable theranostics. Chem Comm (Camb), 2018, **54**(59): 8214-8217
- [43] Wang L, Zheng J, Li Y, *et al.* AgNP-DNA@GQDs hybrid: new approach for sensitive detection of H₂O₂ and glucose via simultaneous AgNP etching and DNA cleavage. Anal Chem, 2014, **86**(24): 12348-12354
- [44] Sun W, Wu F G. Two-dimensional materials for antimicrobial applications: graphene materials and beyond. Chem Asian J, 2018, **13**(22): 3378-3410
- [45] Liu B, Liu J. DNA adsorption by magnetic iron oxide nanoparticles and its application for arsenate detection. Chem Comm (Camb), 2014, **50**(62): 8568-8570
- [46] Li W, Wang H, Zhao Z, *et al.* Emerging nanotechnologies for liquid biopsy: the detection of circulating tumor cells and extracellular vesicles. Adv Mater, 2019, **31**(45): e1805344
- [47] Wang X, Zhong X, Lei H, *et al.* Hollow Cu₂Se nanozymes for tumor photothermal-catalytic therapy. Chem Mater, 2019, **31**: 6174-6186
- [48] Lin L S, Huang T, Song J, *et al.* Synthesis of copper peroxide nanodots for H₂O₂ self-supplying chemodynamic therapy. J Am Chem Soc, 2019, **141**(25): 9937-9945
- [49] Wen M, Ouyang J, Wei C, *et al.* Artificial enzyme catalyzed cascade reactions: antitumor immunotherapy reinforced by NIR-II light. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, **58**(48): 17425-17432
- [50] Chen W H, Vázquez-González M, Kozell A, *et al.* Cu²⁺-modified metal-organic framework nanoparticles: a peroxidase-mimicking nanoenzyme. Small, 2018, **14**: 1703149
- [51] Li Y, Wang Z G, Li H, *et al.* NAD⁺ cofactor regeneration by TMB-mediated horseradish-peroxidase-catalyzed reactions. Chem Select, 2018, **3**(39): 10900-10904
- [52] Ma B, Wang S, Liu F, *et al.* Self-assembled copper-amino acid nanoparticles for *in situ* glutathione “AND” H₂O₂ sequentially triggered chemodynamic therapy. J Am Chem Soc, 2019, **141**(2): 849-857
- [53] Wu R, Chong Y, Fang G, *et al.* Synthesis of Pt hollow nanodendrites with enhanced peroxidase-like activity against bacterial infections: implication for wound healing. Adv Funct Mater, 2018, **28**: 1801484
- [54] 于德玲,王昌留. 过氧化氢酶的研究进展. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, **25**(2): 189-194
- Yu D L, Wang C L. Chin J Histochem Cytochem, 2016, **25**(2): 189-194
- [55] Lorieux C, Calderon P B. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. Biol Chem, 2017, **398**(10): 1095-1108
- [56] 吴杰,石卉,马秋莲. 肿瘤微环境在放疗抵抗和复发中的作用及研究进展. 临床肿瘤学杂志, 2022, **27**(5): 467-471
- Wu J, Shi H, Ma Q L. Chinese J Clin Oncol, 2022, **27**(5): 467-471
- [57] Wang D, Wu H, Lim W Q, *et al.* A mesoporous nanoenzyme derived from metal-organic frameworks with endogenous oxygen

- generation to alleviate tumor hypoxia for significantly enhanced photodynamic therapy. *Adv Mater*, 2019, **31**(27): e1901893
- [58] Qu J, Zhao X, Liang Y, *et al.* Degradable conductive injectable hydrogels as novel antibacterial, anti-oxidant wound dressings for wound healing. *Chem Eng J*, 2019, **362**: 548-560
- [59] Liu J, Du P, Liu T, *et al.* A black phosphorus/manganese dioxide nanoplatfrom: oxygen self-supply monitoring, photodynamic therapy enhancement and feedback. *Biomaterials*, 2019, **192**: 179-188
- [60] Zhang Y, Wang H, Jia X, *et al.* Cascade catalytic nanoplatfrom for enhanced starvation and sonodynamic therapy. *J Drug Target*, 2020, **28**(2): 195-203
- [61] Goel S, Duda D G, Xu L, *et al.* Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases. *Physiol Rev*, 2011, **91**(3): 1071-121
- [62] Meng L, Cheng Y, Tong X, *et al.* Tumor oxygenation and hypoxia inducible factor-1 functional inhibition *via* a reactive oxygen species responsive nanoplatfrom for enhancing radiation therapy and abscopal effects. *ACS Nano*, 2018, **12**(8): 8308-8322
- [63] Yin S Y, Song G, Yang Y, *et al.* Persistent regulation of tumor microenvironment *via* circulating catalysis of MnFe₂O₄@Metal-organic frameworks for enhanced photodynamic therapy. *Adv Funct Mater*, 2019, **29**(25): 1901417-1901417
- [64] 张玉涛. 氧化铈基纳米酶的制备及其在肿瘤治疗方面的应用研究[M]. 南京:南京邮电大学, 2021
- Zhang Y T. Cerai Based Nanozymes: Synthesis and Tumor Therapy Application[M]. Nanjing: Nanjing University of Posts and Telecommunications, 2021
- [65] Jiang W, Han X, Zhang T, *et al.* An oxygen self-evolving, multistage delivery system for deeply located hypoxic tumor treatment. *Adv Healthcare Mater*, 2020, **9**(2): e1901303
- [66] Sun D, Pang X, Cheng Y, *et al.* Ultrasound-switchable nanozyme augments sonodynamic therapy against multidrug-resistant bacterial infection. *ACS Nano*, 2020, **14**(2): 2063-2076
- [67] Dai X, Du T, Han K. Engineering nanoparticles for optimized photodynamic therapy. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, **5**(12): 6342-6354
- [68] Ge C, Fang G, Shen X, *et al.* Facet energy versus enzyme-like activities: the unexpected protection of palladium nanocrystals against oxidative damage. *ACS Nano*, 2016, **10**(11): 10436-10445
- [69] Feng W, Han X, Hu H, *et al.* 2D vanadium carbide MXenzyme to alleviate ROS-mediated inflammatory and neurodegenerative diseases. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 2203
- [70] Xu H, Zhang Z, Zhang L, *et al.* Tungsten disulfide nanoflowers with multi-nanoenzyme activities for the treatment of acute liver injury. *J Colloid Interface Sci*, 2022, **625**: 544-554
- [71] Zhang W, Hu S L, Yin J J, *et al.* Prussian blue nanoparticles as multienzyme mimetics and reactive oxygen species scavengers. *J Am Chem Soc*, 2016, **138**(18): 5860-5865
- [72] Zhou R, Wang P, Guo Y, *et al.* Prussian blue analogue nanozymes mitigate oxidative stress and boost bio-fermentation. *Nanoscale*, 2019, **11**(41): 19497-19505
- [73] Shi J, Wang P Y, Guo Y R, *et al.* Bioinspired nanosponge for salvaging ischemic stroke *via* free radical scavenging and self-adapted oxygen regulating. *Nano Lett*, 2020, **20**(1): 780-789
- [74] Sun H C, Miao L, Li J X, *et al.* Self-assembly of cricoid proteins induced by “soft nanoparticles”: an approach to design multienzyme-cooperative antioxidative systems. *ACS Nano*, 2015, **9**(5): 5461-5469
- [75] Guo H R, Guo H, Xie Y, *et al.* Mo₃Se₄ nanoparticle with ROS scavenging and multi-enzyme activity for the treatment of DSS-induced colitis in mice. *Redox Biol*, 2022, **56**: 102441
- [76] Zhang L, Laug L, Münchgesang W, *et al.* Reducing stress on cells with apoferritin-encapsulated platinum nanoparticles. *Nano Lett*, 2010, **10**(1): 219-233
- [77] Zhang B, Zhang Y, Liang W B, *et al.* Copper sulfide functionalized molybdenum disulfide nanohybrids as nanoenzyme mimics for electrochemical immunoassay of myoglobin in cardiovascular disease. *Rsc Adv*, 2017, **7**: 2486e2493
- [78] Wang C, Yang J, Dong C, *et al.* Glucose oxidase-related cancer therapies. *Adv Ther*, 2020, **3**: 2000100
- [79] Li J, Xie C, Huang J, *et al.* Semiconducting polymer nanozymes with photothermic activity for enhanced cancer therapy. *Angew Chem*, 2018, **130**(15): 4059-4062
- [80] Lin L, Yuan B, Zhang B, *et al.* Uncovering the disposable face masks as vectors of metal ions (Pb(II), Cd(II), Sr(II)) during the COVID-19 pandemic. *Chem Eng J*, 2022, **439**: 135613
- [81] Li S, Zhou Z, Tie Z, *et al.* Data-informed discovery of hydrolytic nanozymes. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 827
- [82] Wu J, Wang X, Wang Q, *et al.* Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes (II). *Chem Soc Rev*, 2019, **48**(4): 1004-1076
- [83] Chen H W, Wang L Y, Yeh J, *et al.* Reducing non-specific binding and uptake of nanoparticles and improving cell targeting with an antifouling PEO-b-P gamma MPS copolymer coating. *Biomaterials*, 2010, **31**(20): 5397-5407
- [84] Ma Q, Liu Y, Zhu H, *et al.* Nanozymes in tumor theranostics. *Front Oncol*, 2021, **11**: 666017
- [85] Ren X, Chen D, Wang Y, *et al.* Nanozymes-recent development and biomedical applications. *J Nanobiotechnol*, 2022, **20**(1): 92
- [86] Lin N, Verma D, Saini N, *et al.* Antiviral nanoparticles for sanitizing surfaces: a roadmap to self-sterilizing against COVID-19. *Nano Today*, 2021, **40**: 101267
- [87] Özkale B, Sakar M S, Mooney D J. Active biomaterials for mechanobiology. *Biomaterials*, 2021, **267**: 120497

Research and Application of Nanozymes in Disease Treatment*

LIU Hang^{1,2)**}, LI Yi-Xuan^{1,2)**}, QIN Zi-Tong^{1,2)}, ZHAO Jia-Wen^{1,2)},
ZHOU Yue-Jie^{1,2)}, LIU Xiao-Fei^{1)***}

⁽¹⁾*Institute of Regenerative and Reconstructive Medicine, MED-X Research Institute,*

The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China;

⁽²⁾*Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an 710061, China)*

Abstract Nanozyme is novel nanoparticle with enzyme-like activity, which can be classified into peroxidase-like nanozyme, catalase-like nanozyme, superoxide dismutase-like nanozyme, oxidase-like nanozyme and hydrolase-like nanozyme according to the type of reaction they catalyze. Since researchers first discovered Fe₃O₄ nanoparticles with peroxidase-like activity in 2007, a variety of nanoparticles have been successively found to have catalytic activity and applied in bioassays, inflammation control, antioxidant damage and tumor therapy, playing a key role in disease diagnosis and treatment. We summarize the use of nanozymes with different classes of enzymatic activity in the diagnosis and treatment of diseases and describe the main factors influencing nanozyme activity. A Mn-based peroxidase-like nanozyme that induces the reduction of glutathione in tumors to produce glutathione disulfide and Mn²⁺, which induces the production of reactive oxygen species (ROS) in tumor cells by breaking down H₂O₂ in physiological media through Fenton-like action, thereby inhibiting tumor cell growth. To address the limitation of tumor tissue hypoxia during photodynamic tumor therapy, the effect of photodynamic therapy is significantly enhanced by using hydrogen peroxide nanozymes to catalyze the production of oxygen from H₂O₂. In pathological states, where excess superoxide radicals are produced in the body, superoxide dismutase-like nanozymes are able to selectively regulate intracellular ROS levels, thereby protecting normal cells and slowing down the degradation of cellular function. Based on this principle, an engineered nanosponge has been designed to rapidly scavenge free radicals and deliver oxygen in time to save nerve cells before thrombolysis. Starvation therapy, in which glucose oxidase catalyzes the hydrolysis of glucose to gluconic acid and hydrogen peroxide in cancer cells with the involvement of oxygen, attenuates glycolysis and the production of intermediate metabolites such as nucleotides, lipids and amino acids, was used to synthesize an oxidase-like nanozyme that achieved effective inhibition of tumor growth. Furthermore, by fine-tuning the Lewis acidity of the metal cluster to improve the intrinsic activity of the hydrolase nanozyme and providing a shortened ligand length to increase the density of its active site, a hydrolase-like nanozyme was successfully synthesized that is capable of cleaving phosphate bonds, amide bonds, glycosidic bonds and even biofilms with high efficiency in

* This work was supported by grants from the Natural Science Foundation of Shaanxi Province (2023-JC-QN-0836), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (xzy012022099), the Young Talent Lifting Program for Science and Technology Association of Shaanxi Province (20230302), the National Key Research and Development Project of China (92048202), and the Key Research and Development Plan of Shaanxi Province (2022ZDLSF04-09, 2021LL-JB-06).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-19992981729, E-mail: xiaofeilu@xjtu.edu.cn

Received: December 25, 2022 Accepted: June 7, 2023

hydrolyzing the substrate. All these effects depend on the size, morphology, composition, surface modification and environmental media of the nanozyme, which are important aspects to consider in order to improve the catalytic efficiency of the nanozyme and have important implications for the development of nanozyme. Although some progress has been made in the research of nanozymes in disease treatment and diagnosis, there are still some problems, for example, the catalytic rate of nanozymes is still difficult to reach the level of natural enzymes *in vivo*, and the toxic effects of some heavy metal nanozymes material itself. Therefore, the construction of nanozyme systems with multiple functions, good biocompatibility and high targeting efficiency, and their large-scale application in diagnosis and treatment is still an urgent problem to be solved. (1) To improve the selectivity and specificity of nanozymes. By using antibody coupling, the nanoparticles are able to specifically bind to antigens that are overexpressed in certain cancer cells. It also significantly improves cellular internalization through antigen-mediated endocytosis and enhances the enrichment of nanozymes in target tissues, thereby improving targeting during tumor therapy. Some exogenous stimuli such as laser and ultrasound are used as triggers to control the activation of nanozymes and achieve specific activation of nanozyme. (2) To explore more practical and safer nanozymes and their catalytic mechanisms: biocompatible, clinically proven material molecules can be used for the synthesis of nanoparticles. (3) To solve the problem of its standardization and promote the large-scale clinical application of nanozymes in biomonitoring. Thus, it can go out of the laboratory and face the market to serve human health in more fields, which is one of the future trends of nanozyme development.

Key words nanozymes, disease treatment, biological detection

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0577