



综述

治疗和诊断中的中性肽链内切酶（脑啡肽酶）：阴与阳

摘要：

脑啡肽酶 (NEP) 是一种锌依赖的金属蛋白酶，在组织中以跨膜和可溶性两种形式存在。NEP的底物参与调节心血管系统和神经系统。此综述中，我们对该酶的一些生化特性和生理功能进行了讨论，并对NEP可作为一种治疗靶点进行了重点讨论。本文对NEP抑制剂用于心衰治疗的历史及各种生理学信息进行了描述，同时还介绍了对阿尔茨海默病患者进行基因和细胞疗法治疗时NEP活性升高的相关情况。此外，本综述的另一个重要议题为NEP可作为预测心血管疾病并发症风险的潜在标志物。本文还分析和总结了各种类型心力衰竭中可溶性NEP活性检测方法在诊断和预后表现和心血管诊断中利钠肽 (NEP底物) 可能充当的新角色。

Neutral Endopeptidase(Neprilysin) in Therapy and Diagnostics:Yin and Yang

E.E.Feygina^{1,2,a*},A.G.Katrukha^{1,3},and A.G.Semenov^{1,2}

¹HyTest Ltd.,20520 Turku,Finland ²Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,Lomonosov Moscow State University,119991 Moscow,Russia ³Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology,119991 Moscow,Russia *e-mail:Evgeniya.Feygina@hytest.fi

Received June 7,2019

Revised August 2,2019

Accepted August 19,2019

译：田洁 校对：王楠

脑啡肽酶：背景信息

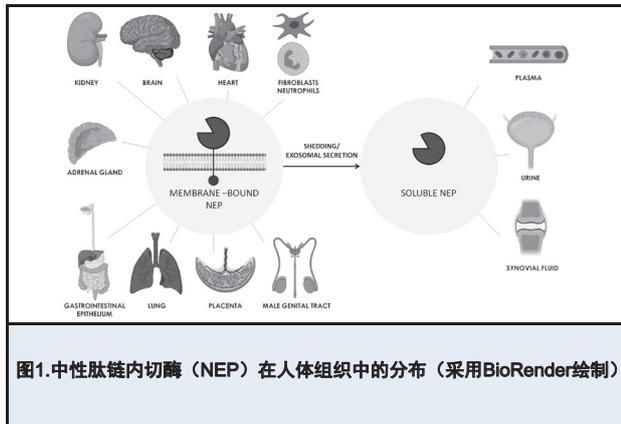
近年来，由于2014年Entresto™（诺欣妥）（LCZ696，在俄罗斯联邦注册为Uperio™）的出现，脑啡肽酶（NEP，中性肽链内切酶，EC 3.4.24.11）得到了较多的关注，Entresto™开创了心衰(Heart Failure)治疗的新时代^[1]。诺华制药（瑞士）制造的这个双效药物结合了血管紧张素II的I型受体阻断剂缬沙坦和NEP阻断剂沙库比曲两种药物。自此之后，LCZ696和它的一个靶标-NEP两者一起成为了科研焦点。尽管如此，关于NEP的研究以及在治疗上尝试将此酶靶向化的研究要远远早于LCZ696的问世。

NEP最初是在1973年肾刷状缘的功能和特性研究中被鉴定得到的。NEP与其它两个水解酶一同从兔肾近端小管中分离得到^[2]。基于它的定位，NEP可能参与了肾脏过滤中的多肽代谢。而后，NEP被发现与之前检测到的大脑酶-脑啡肽酶相同，脑啡肽酶可降解内源性啡肽类物质^[3, 4]。NEP还被称作急性淋巴细胞白血病抗原(CALLA)和CD10中性粒细胞分化抗原^[5]。哺乳动物的NEP是高度保守的。因此，人

类和啮齿类动物（小鼠，大鼠）的NEP酶，人和家兔的NEP酶的同源性均为94%，而人类和猪的NEP序列同源性为93%。当把保守氨基酸部分算上，则人类和动物NEP的序列相似性可达97%。此外，猪体内还存在非共价结合的NEP同源二聚体^[6]。

NEP属于锌依赖的金属蛋白酶家族。它是一种II型膜蛋白，其功能为膜结合的肽链内切酶。NEP包含749个氨基酸残基(a.a.)^[7, 8]，并且包含一个小的N-末端结构域、一个跨膜螺旋和一个具有催化活性的C-末端结构域，该结构域通过典型的His-Glu-X-X-His基序（其中X为苏氨酸或疏水残基）结合一个锌离子。NEP已在多种组织中得到鉴定，如肾脏（尤其丰富）、大脑、心脏、肺、肾上腺、肠上皮、男性生殖管、胎盘，以及成纤维细胞和中性粒细胞的细胞表面（图1）^[9-13]。可溶性NEP (sNEP) 被认为是由脱落的胞外域或外泌体产生的^[14]。具有催化活性的sNEP也发现于血液、尿液和关节液中（图1）^[15, 16]。膜结合性NEP在抑制

物的亲和力、最佳pH值和 K_m 范围方面均与可溶性NEP类似；然而，sNEP的最大反应速率（ V_{max} ）却显著低于膜结合性酶^[15, 16]。因此，NEP的体内酶活性被认为主要来源于其组织相关的形式。



在所有的锌依赖金属蛋白酶中，NEP2蛋白质表现出与NEP最高的同源性。人类体内，NEP2包含两种可转变的剪切异构体。其中一种异构体跨越细胞膜，另一异构体，先前被称作SEP（可分泌性肽链内切酶）为可溶性（与NEP类似）。在许多情况下，NEP和NEP2表现出类似但不完全相同的底物特异性^[17, 18]。因此，由于NEP和内源性NEP2的高度同源性，NEP相关的功能研究可能会变得复杂。

NEP的疏水催化片段存在空间位阻，这也许能够解释该酶的底物特异性；NEP通常情况下主要裂解约3kDa的小肽段。NEP水解肽键中疏水氨基酸的氨基端，主要为苯丙氨酸和亮氨酸。NEP的各种底物包括血管活性多肽，如A型利钠肽（ANP）、B型利钠肽（BNP）、C型利钠肽（CNP）^[21, 22]、血管舒缓激肽^[23]、神经肽P物质^[24]、I型和II型血管紧张素、肾上腺髓质素^[25]、内皮素^[26]、生长激素抑制剂^[27]，以及 β -淀粉样肽（A β ）， β -淀粉样肽与阿尔茨海默症（AD）的发病相关^[28, 29]。

NEP的最佳pH值在中性范围附近（pH~6.0），这也表现在该酶的名称中。螯合有锌离子的化合物（如EDTA）可作为NEP的抑制剂，是因为锌是蛋白酶催化活性所必须的^[31, 32]。当应用酶催化活性的NEP时，应考虑以上因素。塞奥芬（3-巯基-2-苄基丙基甘氨酸）被看作是第一个选择性的合成NEP抑制剂（ $K_i=2.3nM$ ）。另一个常用的NEP抑制剂是磷酰二肽。唾液啡肽家族充当了内源性的NEP抑制剂^[33, 34]。

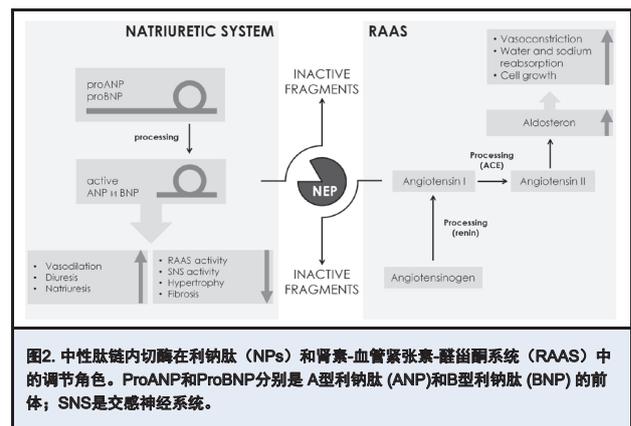
NEP在器官和组织中的广泛分布以及其广泛的底物特异性，可以解释NEP可参与多种代谢途径，也可以解释NEP可参与多种疾病紊乱的病理机制。目前已经发现，NEP参与了心力衰竭、AD，以及各种类型的癌症，包括前列腺癌和乳腺癌^[35, 36]。这也解释了NEP在生物医学实践中广泛的应用。自从NEP被发现后，众多实践尝试采用其作为一种治疗

靶标或诊断标志物。NEP已在HF和AD的研究中表现出特别的重要性。

脑啡肽酶作为一种治疗靶标

心力衰竭。NEP在心血管系统调节中的角色。由于NEP底物介导的多种生理效应，NEP已经不断地吸引着HF研究者的关注。在HF发展中充当重要角色的三个调节系统分别为：自主神经系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统（RAAS），以及利钠肽（NP）系统^[37, 38]。RAAS和NP系统互相抵消。血管紧张素II和醛固酮（RAAS的主要组分）刺激肾脏对钠的再吸收，增加总血液体积，并促进血管收缩，进而引起系统性血压的全面升高（图2）。相反，NP系列促进利尿排泄、促进利尿，并促进血管舒张，以上通过减少心肌负担以降低系统性血管压力，进而在HF中表现出正面效果^[39]。血管紧张素I和血管紧张素II均为NEP的底物^[39]。ANP和BNP也是由NEP降解，因此NEP在心血管调节中是一个双重功能酶。在RAAS组分和NP系列之外，其它NEP底物，如，内皮素、肾上腺髓质素、P物质，以及血管舒缓激肽可通过增加或降低总血液体积、血管压力、从血液循环分流液体至机体组织，从而分别抵消血管收缩或血管舒张作用^[41]。

NEP和脑啡肽酶。NEP对其各种底物的不同亲和力额外增加了研究者对NEP在心血管系统中的调节功能的研究难度。因此，纯化的NEP对于人NPs的裂解 K_{cat}/K_m 值为7.85，对ANP是 > 5.12 ，对于BNP是 > 0.53 ^[22]。如上所述，其他血管活性肽，包括血管舒张类（血管舒缓激肽、P物质和肾上腺髓质素）和血管收缩类（血管紧张素II和内皮素I）均由NEP水解。NEP对这些底物的亲和力各异，可能是由酶对于不同大小肽段的催化部位靠近程度的差异所引起^[41, 42]。



提到NPs，值得一提的是ANP被认为是NEP“最好”的底物之一，NEP与胰岛素降解酶一起降解循环的ANP^[43-46]。相反，BNP曾在很长一段时间内被误认为可以耐受NEP的水解^[47]。然而，BNP被发现可以很高效地被NEP所降解，但是速率远低于ANP和CNP^[22, 48]。此外，NPs可被NEP在不同位点以不同的反应速率所酶解^[22]。BNP的最易感部位是残基4和5，然后是17-18位点和23-24位点。ANP和CNP分别

最先在7-8和6-7的位点被裂解，与限制该分子环状结构的二硫键相邻。BNP中的类似肽键对NEP酶解的耐受性被认为是BNP相较于ANP和CNP更加稳定的原因^[22]。除了以上所述的裂解位点，NPs也含有一些“慢速”水解位点（图3）^[22, 49, 50]。

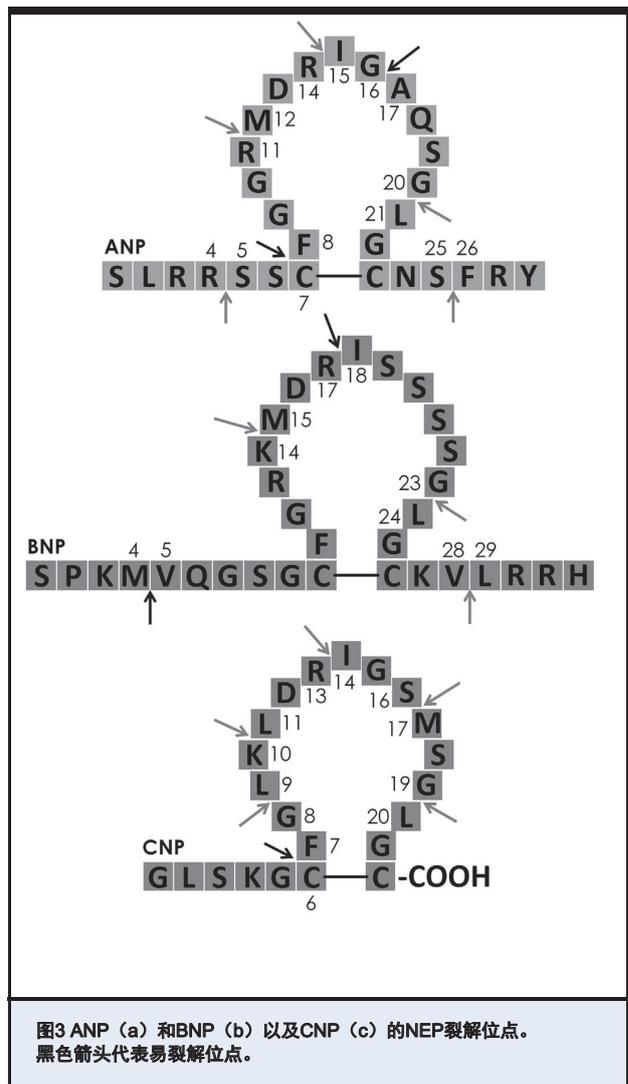
应该指出的一点是，NPs被以没有活性的前体分子释放到血流中，这些分子随后被去除N-末端肽段后转变成相应的活性肽段^[39, 51, 52]。例如，BNP的前体物质pro-BNP，以及它的裂解产物N-末端片段（NT-proBNP）可与其活性形式BNP一同在血液中被检测到^[53, 54]。此外，血液proBNP的水平高出BNP水平的几倍，因此占BNP的大部分免疫活性^[55, 56]。NT-proBNP和BNP被广泛用作HF的诊断标志物以及HF并发症发展的预防因子^[57]。

NEP并不裂解NP前体，仅降解有生物活性的ANP、BNP和CNP^[49, 50]。心肌细胞表达的ANP和BNP相关的生理效应包括血管舒张、利尿形成的尿钠增多、降低的高渗性心肌负荷以及可控的心脏重塑。CNP表达于脑、软骨细胞和内皮细胞中，并且主要与旁分泌血管舒张有关^[58]。

因此，在使用NEP作为治疗HF的治疗靶点的尝试中，主要是抑制NEP对NP的降解，潜在增强NP对心血管系统有益作用^[58]。

NEP抑制。在20世纪90年代，科学家通过采用选择性抑制剂在治疗中尝试对NEP活性进行了首次尝试，例如坎沙曲和消旋卡多曲，提高了血清中ANP浓度并降低了尿钠^[59, 60]。然而，NEP抑制的有益效用仅在中度HF模型中发现，同时RAAS并未参与发病。在其它模型中应用坎沙曲并没有产生正面的血液动力学效应。NEP的抑制与血管紧张素II浓度的升高（见上文）以及在HF的心血管系统中负面RAAS相关效应增长相关^[61-63]。

仅抑制NEP未能取得有益效果，这一现象使得科学家们认识到需要同时关注NPs和RAAS。血管紧张素转化酶（ACE）的抑制剂被发现可减轻RAAS相关的不良效应，并能够成功降低HF病人的重复入院率和死亡风险^[64, 65]。21世纪初，一项包括了双重抑制作用药物开发的提议被提出，这因此成就了奥马曲拉的发明，它含有同名的活性成分，可以同时阻断NEP和ACE的活性^[66-68]。这种新药的疗效在名为奥马曲拉与依那普利降低心脏事件的随机研究（OVERTURE）的临床研究中进行了评价^[69]。然而，尽管HF相关的不良并发症发生率降低了，但是接受奥马曲拉治疗的患者发生血管性水肿的几率却显著增加。这一效应和NEP和ACE能够裂解血管舒缓激肽有关。这两种酶被奥马曲拉抑制，会导致血管舒缓激肽的浓度升高并引起体液流入机体组织并发生水肿^[69-71]。在第一项临床研究后不到十年，双效药物NEP/ACE抑制剂的研究被终止。



尽管如此，关于安全靶向RAAS和NPs的方法的探索同时还在继续。在2014年，诺欣妥（诺华制药，瑞士；在俄罗斯联邦注册为Uperio™）问世，该药物是一种I类血管紧张素受体-脑啡肽酶的抑制剂（ARNi）。该药物包含两种活性成分-缬沙坦（血管紧张素受体阻断剂）和沙库比曲（选择性NEP抑制剂）。ARNi在抑制RAAS的同时激活NPs，因此不会引起血管舒缓激肽的升高或水肿的风险。PARADIGM-HF临床研究评价了诺欣妥相较于ACE抑制剂依那普利的疗效^[1, 72]。与依那普利治疗患者相比较，诺欣妥使伴射血分数降低的慢性心力衰竭患者的住院率和死亡率降低了20%。在HF患者的急性呼吸困难的恢复期，诺欣妥也表现出了疗效^[73]。目前，诺欣妥对具有射血分数保留的HF病人的疗效正在评估中^[74, 75]。

因此，如预期，通过阻断NEP活性进而同时抑制RAAS并提高活性利钠肽水平这一策略在治疗各种类型的HF疾病中是有效的。鉴于I类新药诺欣妥的成功，预计新的ARNi类药物剂将会涌现。这些新药剂可能会在含NEP抑制剂同时包含更多额外成分，从而能够覆盖更宽的靶标范围。

阿尔茨海默疾病。除了血管活性肽外，NEP还可以水解 β 淀粉样蛋白多肽（A β ），A β 和阿尔茨海默病（AD）的发病机理相关^[77, 78]。因此，AD可被归类与NEP功能活性相关的失调性疾病。

AD是一种严重的神经退行性病理变化，可导致失忆以及行为和认知的严重损伤^[79]。淀粉样假说暗示AD病理机制是由A β 的产生和胞外降解引起的^[80]。在跨膜淀粉样前体蛋白（APP）的加工过程中，其胞外和胞内结构域分别由 β -和 γ -分泌酶所裂解，形成了不同长度的A β 分子（成淀粉样蛋白途径）。A β 的主要异构体形式，A β 40和A β 42在疏水氨基酸存在下聚合形成单聚体和纤维结构，并最终形成淀粉样蛋白斑（图4）^[81]。目前，认为可溶性A β 单聚体（而不是前面所述的淀粉样蛋白斑）表现出最高的毒性并引起神经死亡^[82]。

值得强调的是A β 是在体内产生的，并在正常情况下表现出生理活性。目前认为AD的病理机制和A β 的异常沉积和聚集相关。在健康个体中，中枢神经系统中A β 的形成和清除速率是基本一致的^[84]，可以防止淀粉样蛋白沉积。与对照组相比，迟发型AD（发于无家族性倾向的A β 沉积的65岁以上老人）与A β 清除速率降低（约1.4倍）相关^[85]。除了NEP，A β 可由其它酶降解，包括ACE和胰岛素降解酶；尽管如此，NEP在脑中作为淀粉样蛋白降解酶起着关键作用^[28]。这在一项将放射性标记A β 42注入大鼠海马体的研究中得到了证实^[77]。采用NEP抑制剂治疗小鼠和大鼠，显著提高了脑淀粉样斑块的沉积。在NEP敲除的小鼠中也得到了类似的数据^[86-88]。与同龄健康个体比较，患AD的病人脑中的NEP下调的数据结果也证实了NEP在A β 分解代谢中的关键作用^[89]。

鉴于以上提到的研究结果，NEP可能会作为一个AD的潜在治疗靶标。尽管如此，与HF不同，在AD中NEP的活性应该得到上调，以减少A β 的含量，降低淀粉样蛋白斑的沉积，并可能减缓疾病进程。采用基因治疗上调NEP的表达可能会是降低A β 水平的一种策略。几项临床前研究表明，通过慢病毒、疱疹病毒、或者腺病毒载体将NEP基因转移入过表达人APP的转基因小鼠中会导致淀粉样蛋白斑块的减少^[90-92]。在注射了NEP-表达慢病毒转导的成纤维母细胞小鼠中（即，结合了细胞技术和基因治疗），发现了与认知能力提高相关的类似效应^[93]。另一促进NEP表达的方法是将含NEP-mRNA纳米胶束递送至大鼠脑部^[94, 95]。

尽管如此，病毒载体编码基因的表达水平和时间窗口难以预测。此外，潜在的病毒相关毒性和下游炎症应答可能会限制病毒介导的NEP基因递送的相关应用。另一建议的方法是采用重组的可溶性NEP蛋白，之前研究表明其可抑制A β 介导的海马神经元凋亡，提高细胞的体外生存率，并可改善AD小鼠模型在行为测试中的记忆力^[96]。

尽管有许多关于AD病人体内上调NEP活性的研究，目前尚没有方法进入临床研究。截至目前，虽然将NEP的存在作为AD治疗靶标的研究仍在进行中，但是针对该靶点的药物尚没有被开发（在^[95]中作了回顾）。

HF和AD：在问题的对立面？如上所述，若要达到HF的预期治疗目的需要NEP的抑制，而治疗AD则需要NEP活性的上调。这表明采用NEP抑制剂治疗HF可能有潜在的不良影响^[97]。关于沙库比曲（诺欣妥的成分之一）在健康志愿者脑脊液（CSF）和血液中的分布研究表明沙库比曲的在CSF中的浓度足够抑制NEP^[98]。此外，AD的风险发病年龄组同样有HF发病风险。因此，诺欣妥或其类似物的给药可能会降低A β 的降解并随后促进这种肽沉积至具有神经毒性的含量。

值得注意的是，没有患AD的病人被入组到诺欣妥的临床试验中^[72]。在PARADIGM-HF临床实验中及随访至4.3年后，与对照组相比，未发现受试者认知功能方面有老年痴呆相关的不良反应。然而，AD患者中诺欣妥相关效应需要更长的评估时间^[99]。另一关注点是越来越多的40岁以下的病人患HF^[100, 101]。这种情况下，相较于年长的患者，这些病人需要接受更长时间的NEP抑制剂给药，这可能会潜在地增加更年轻时患AD疾病的风险。因此，应密切监测长期接受NEP抑制剂类药物治疗的患者的淀粉样蛋白的形成和认知功能的损伤。

NEP 作为生物标志物

由于其参与机体的调节系统（如RAAS和NPs），NEP已被建议作为HF相关并发症的一个预测因子^[102]。

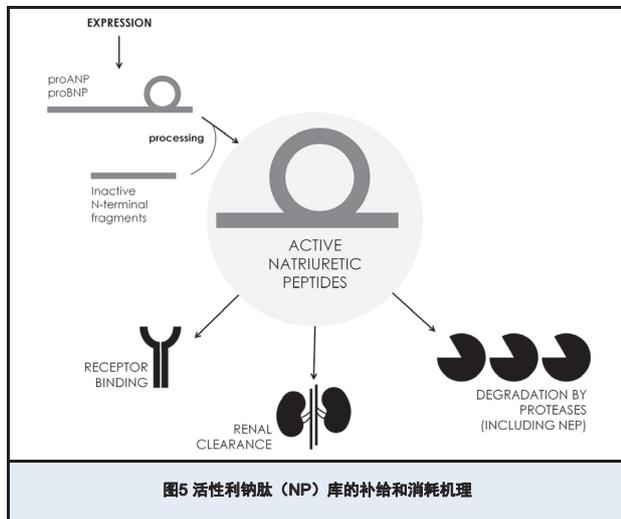
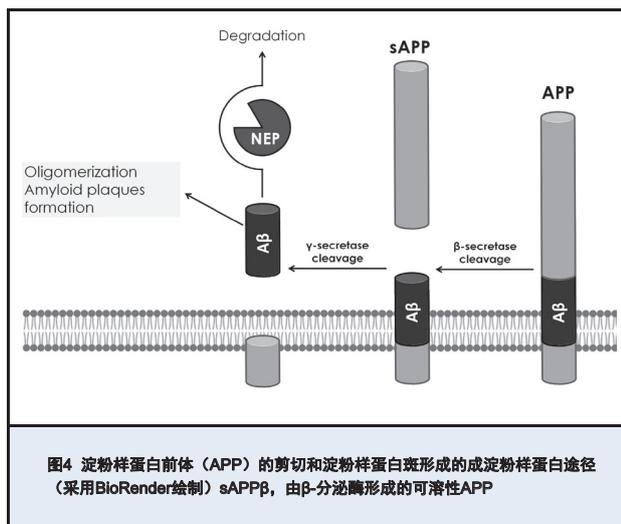
sNEP的定量检测。采用两个特异性抗体对射血分数降低的HF病人循环系统中的sNEP的免疫化学定量表明，高sNEP水平与并发症风险升高相关。之前的一项研究表明，由HF并发症引起的重复入院率和心血管疾病相关的致死率的比值比分别为1.18（ $p=0.001$ ）和1.18（ $p=0.006$ ）^[103]。同样的，这种由HF并发症引起的入院率和死亡率与sNEP水平的统计学显著相关也被采用预后指标的多变量分析所证实^[104]。sNEP是一个独立的预后指标；其水平与NT-proBNP浓度不相关。此外，与NT-proBNP相比，sNEP水平表现出与合并症较低的关联性（如肥胖和糖尿病）^[104]，该文章指出复合终点和心血管死亡的ORs分别为1.14（ $p=0.03$ ）和1.15（ $p=0.04$ ）。

与此不同的是，射血分数保留的HF患者中的高sNEP水平与并发症风险不相关^[105]。与射血分数降低的慢性HF病人类似，对350例急性HF病人的检查证明了sNEP对于复合终点具有预后价值【长期随访的OR为1.21（ $p=0.01$ ）】^[106]。

因此，sNEP作为预测指标的数据有所争议。sNEP释放入循环系统背后的机理尚未阐明。跨膜蛋白胞外段的剪切据知是非特异性的，这使得严密调控HF病人的循环sNEP变得不太可能。此外，sNEP的定量也存在一些技术问题，例如，采用市售免疫化学检测试剂盒得到的数据间较差的相关性，以及缺乏标准化^[107]。因此，sNEP的预后价值的需要谨慎解读。

NEP活性检测。检测NEP的活性比检测sNEP的浓度看起来更加合理，因为NEP的酶促活性直接参与了代谢调节和HF病理形成过程。已有多项研究在这方面有所尝试。尤其是HF病人的血浆sNEP活性采用了荧光底物进行了检测^[108, 109]。然而，在这些研究中采用EDTA血浆定量检测sNEP活性具有严重的局限性，因为EDTA可螯合锌离子从而抑制NEP的生理活性。同时，目前可获得的NEP荧光底物缺乏特异性，更加增加了NEP活性检测的复杂性。

AD病人的循环sNEP活性也得到了检测。特别是，结果表明当采用荧光底物时，AD病人的血浆sNEP平均活性比对照组低42%（分别为 1.028 ± 0.086 对应 1.770 ± 0.124 nmol 底物/分钟，每毫克蛋白质）^[110]。



重要的是，采用合成底物^[111, 112]检测的血浆或血清中sNEP的活性仅占机体中总NEP活性的一小部分。这一事实，再加上缺乏对NEP剪切机制的明确认识，提示检测组织中总NEP的活性可能更具临床重要性。如此一来，可能需要采用内源性NEP底物去检测反应中形成的特异性剪切产物。

HF患者体内NEP活性定量检测除了可以预测不良事件的风险外，由于目前市场上新兴ARNi药物的出现，对于可以对药物产生高峰疗效的患者筛选也将是NEP活性定量检测的潜在应用领域。从ARNi类药物的影响考虑，ARNi对于认知功能方面的潜在影响（尽管尚未知），以及这些制剂的高成本，对每个病人的个性化用药方案显得尤为重要。

ARNi对于HF病人血液动力学方面的有益效用可能与其ANP和BNP的活性形式在血液循环中的上调相关，这是由于降解ANP和BNP的NEP活性得到了抑制。ARNi药物有可能在NEP水平高表达的病人体内表现出更高的有效性，如，当NEP对血液中NP库的消耗表现出显著影响时。相反，NP的产生也应相对稳定，否则，NEP的抑制将不会引起循环中活性肽形式浓度的显著变化。因此，在高效NP生产和高NEP活性的情况下，ARNi药物对NEP的抑制可能会将浓度平衡偏向活性ANP和BNP形式，从而发挥药效（图5）。要确定这类病人年龄分组，建议检测血浆中由NEP催化清除的NPs降解产物^[113]。

其中的一个产物是由BNP的17-18位点裂解产生的（如上所述），导致了BNP环状结构的破裂并产生了两个在完整分子中不存在的全新的表位（neo表位），也就是，neo 17（含C末端Arg17残基）和neo 18（含N末端Ile18残基）。这两个表位可以被用于相应肽段的免疫化学检测。含neo 17表位的BNP异构体统称为BNP-neo17。在之前的一项研究中^[113]，我们将人源的BNP静脉注射入大鼠并在不同时间点检测了大鼠血浆中不同形式BNP的浓度水平。在未采用沙库比曲和采用沙库比曲预处理的大鼠体内（抑制内源性NEP）也开展了相同的实验研究。对是否有BNP抑制的情况进行比较，揭示出BNP-neo17仅在无沙库比曲预处理的情况下产生并积累，而NEP的抑制情况下无BNP-neo17产生。这表明BNP-neo17是由NEP催化的BNP裂解产生的。此外，还在HF患者的血浆样本中检测到BNP-neo17。显然，因为BNP-neo17的水平同时依赖于活性BNP水平和总NEP活性，BNP-neo17是一个反应NEP抑制剂治疗HF疗效的一个潜在生物标志物，尤其是ARNi药物。

ANP是NEP的另一个底物，它的清除可能会产生各种不同的生物标志物产物。检测ANP上NEP的特异性剪切位点以及ANP蛋白水解片段、组分、以及在循环中的含量，可能会为ANP相关生物标志物作为预测NEP抑制剂的疗效方面提供一些提示。

同NP一起，其它物质也可能作为血液中NEP衍生的裂解产物的来源。尽管NEP更倾向于裂解短的肽链，也有数据表明NEP也能够去除纤维蛋白原的N末端肽段的第19个氨基酸残基和成纤维细胞生长因子（FGF-2）C末端肽段的第20个氨基酸残基^[114]。关于这些多肽片段应用于NEP总活性的评估，以及随之产生的HF个性化治疗，均具有高度重要性。

或者，可通过特异性外源性底物的给药以及后续的定量检测裂解产物以评估总的NEP活性。毫无疑问的是，这种方法看起来具有更多优势，因为底物的给药浓度可以远超过内源性底物浓度，这可帮助避免检测微量蛋白水解产物时的技术难点。

NEP的悠久研究历史例证了基础科学研究如何与科研到临床应用发展紧密关联，如HF治疗、AD治疗的探索，以及NEP作为诊断工具应用的评估。因此，个性化用药（如，通过检测特异性裂解底物以测定NEP活性从而针对性的选择HF治疗方法）将会是热门的研究领域。这些新兴的诊断方法越来越关注病患个体相关的病理机制方式和细节，正处于当代临床实践的前沿。当回顾NEP研究的历史时，可引用阴-阳这一概念，阴-阳这一概念起源于中国哲学关于事物

对立面的不可分割这一观点。同样，NEP也有内在的双重性。NEP同时参与了RAAS和NPs的调节；它可作为一种生物标志物或一种治疗靶标；它在HF中应被抑制，但在AD中应被激活。与此哲学一致，只有考虑到这种双重性时，NEP的成功临床应用才有可能实现。

NEP和其酶水解产物之所以参与了非常广泛的生理调节途径是因为它广泛的底物特异性和在机体组织中的广泛存在性。这些因素也造就了NEP在身体机能角色研究方面的高度的复杂性。在这方面，将NEP应用于医疗实践方面的进展也尤为显著，尽管更加深入研究NEP的前景更具有前途，包括寻找新的NEP底物，其活性调节机理的分析和裂解机理，以及对NEP和其作为生物标志物和治疗工具靶标的应用。由于NEP作用于中枢神经通路的枢纽，因此需要一种用于诊断和治疗的联合途径，以及应用于基础研究。

利益冲突。作者声明无利益冲突。

符合伦理标准。此文中没有关于人类受试者或者动物的描述。