

## ·PET 多模态神经分子影像·

## 纳米技术在阿尔兹海默病诊断中的研究进展

张凯<sup>1,2</sup> 施可欣<sup>1,2</sup> 金晨涛<sup>1,2</sup> 田梅<sup>1,2</sup> 张明荣<sup>3</sup> 张宏<sup>1,2,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>浙江大学医学院附属第二医院核医学科, 杭州 310009; <sup>2</sup>浙江大学医学 PET 中心, 杭州 310009; <sup>3</sup>日本国立量子与放射科学技术综合研究所, 日本千叶市 263-8555; <sup>4</sup>山西医科大学, 太原 030001; <sup>5</sup>浙江大学生物医学工程教育部重点实验室, 杭州 310009; <sup>6</sup>浙江大学生物医学工程与仪器科学学院, 杭州 310009

通信作者: 张明荣, Email: [zhang.ming-rong@qst.go.jp](mailto:zhang.ming-rong@qst.go.jp); 张宏, Email: [h Zhang21@zju.edu.cn](mailto:h Zhang21@zju.edu.cn)

**【摘要】** 阿尔兹海默病(AD)是一种常见的神经退行性疾病, 临床表现以渐进性认知和记忆功能减退等为特征, 在疾病晚期可严重影响患者的身心健康和生活质量。AD 的早期诊断仍是全球面临的重大难题之一。 $\beta$  淀粉样肽(A $\beta$ ) 沉积形成的 A $\beta$  斑块和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的神经原纤维缠结为 AD 的标志性病理改变, A $\beta$  和 Tau 蛋白的检测对实现 AD 早期诊断至关重要。近年来, 纳米技术发展迅速, 基于纳米技术的 A $\beta$  或 Tau 蛋白靶向检测为 AD 的早期诊断提供了可能。笔者对基于纳米技术的 AD 诊断研究进行综述。

**【关键词】** 阿尔兹海默病; 纳米技术; Tau 蛋白;  $\beta$  淀粉样肽

**基金项目:** 国家杰出青年科学基金项目(81425015、81725009)

DOI: [10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.002](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.002)

**Application of nanotechnology for diagnosis of Alzheimer's disease**

Zhang Kai<sup>1,2</sup>, Shi Kexin<sup>1,2</sup>, Jin Chentao<sup>1,2</sup>, Tian Mei<sup>1,2</sup>, Zhang Mingrong<sup>3</sup>, Zhang Hong<sup>1,2,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>Department of Nuclear Medicine, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China; <sup>2</sup>Zhejiang University Medical PET Center, Hangzhou 310009, China; <sup>3</sup>National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Chiba 263-8555, Japan; <sup>4</sup>Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; <sup>5</sup>Key Laboratory for Biomedical Engineering of Ministry of Education, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China; <sup>6</sup>The College of Biomedical Engineering and Instrument Science of Zhejiang University, Hangzhou 310009, China

Corresponding author: Zhang Mingrong, Email: [zhang.ming-rong@qst.go.jp](mailto:zhang.ming-rong@qst.go.jp); Zhang Hong, Email: [h Zhang21@zju.edu.cn](mailto:h Zhang21@zju.edu.cn)

**【Abstract】** Alzheimer's disease (AD) is a common neurodegenerative disorder, which is clinically characterized by progressive cognitive deficit and memory impairment. It seriously affects mental health, physical activity, and quality of life of patients in the late stage. However, early diagnosis of AD remains one of the greatest challenges worldwide. Extracellular amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) plaques composed of A $\beta$  and intraneuronal neurofibrillary tangles consisting of hyperphosphorylated Tau proteins are considered as the key pathological hallmarks of AD. Detection of A $\beta$  and Tau protein is considered critical for the early diagnosis of AD. In recent decades, nanotechnology has developed rapidly, and nanotechnology-based A $\beta$ - or Tau-targeted detection has provided the possibility for the early diagnosis of AD. The present review focuses on the research of nanotechnology in the diagnosis of AD.

**【Key words】** Alzheimer disease; Nanotechnology; Tau proteins; Amyloid- $\beta$

**Fund programs:** National Science Fund for Distinguished Young Scholars (81425015, 81725009)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.002

阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿、进行性发展的神经退行性疾病,临床表现以进行性认知功能障碍、执行功能减退以及人格行为异常改变等脑功能损伤为特征,严重制约患者的日常生活、职业与社交能力<sup>[1]</sup>。《2018年世界阿尔茨海默病报告》指出<sup>[2]</sup>,截至2018年,全球约有5千万人患有痴呆症;随着人口老龄化的加剧,全球每3秒就有1例新发病例,预计至2050年,患者总数将达1.5亿;而在所有痴呆症患者中,AD患者约占2/3,给家庭和社会带来沉重的负担。

目前,AD早期诊断仍是全球面临的重大难题之一。临床上,AD的诊断通常基于认知功能测试、神经学检测、一般体格检查和常规实验室分析等检查<sup>[3]</sup>。然而,在AD患者认知减退等临床症状出现前15~20年,其病理生理改变已发生。目前普遍认为,AD的进展有两个关键阶段:临床前阶段和临床阶段。在临床前阶段,与AD发病相关的生物标志物,如 $\beta$ 淀粉样肽(amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )和异常Tau蛋白已出现,但尚不足以诱发神经元死亡或痴呆症状<sup>[4]</sup>。因此,AD早期生物标志物检测对实现AD的早期诊断和个体化治疗方案的制定至关重要。

近几十年来,纳米技术发展迅速,在AD的早期诊断和个体化治疗中具有潜在应用前景<sup>[5]</sup>。纳米技术可在纳米级别(即十亿分之一米)对纳米材料进行控制或操纵,以实现其独特的功能特性<sup>[6]</sup>。由于纳米材料表面原子和(或)分子的排列和间距不同,其性质与相应宏观尺度上的同等材料有明显差异。纳米材料在AD生物标志物的研究和早期诊断等方面具有潜力和优势<sup>[7]</sup>:改进和修饰后的纳米材料可以通过分子间的相互作用靶向受损细胞或组织;同时,表面携带功能化配体的纳米材料可以穿透血-脑屏障(blood brain barrier, BBB),并有更长的生物半衰期等。

笔者对AD的病理机制进行简要概述,并就纳米技术在AD早期诊断的研究进展进行综述,为纳米医学在AD的临床转化提供方向和引导。

## 1 AD的病理机制

A $\beta$ 过度沉积形成的细胞外A $\beta$ 斑块和过度磷

酸化Tau蛋白异常折叠聚集形成的细胞内神经原纤维缠结为AD的两大标志性病理特征<sup>[8]</sup>。AD的病因和发病机制复杂,目前尚未阐明。但在过去30年的研究中,大量证据表明A $\beta$ 异常沉积和Tau蛋白异常缠结与AD患者的神经退行性过程密切相关<sup>[9-10]</sup>。

A $\beta$ 作为AD的病因最有力的证据来自家族性AD的研究,研究显示,家族性AD患者常伴随21号染色体上编码淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、14号染色体上编码早老素1(presenilin 1, PS1)或者1号染色体上编码PS2的基因突变<sup>[11]</sup>。其中,APP是A $\beta$ 的前体,APP基因突变干扰A $\beta$ 的裂解和聚集。PS1和PS2为裂解APP的 $\gamma$ 分泌酶提供 $\alpha$ 催化亚基。PS基因突变最初被认为会导致A $\beta$  42的增加,Szaruga等<sup>[12]</sup>研究发现,PS基因的突变可以导致APP加工效率降低,产生更多长链疏水性A $\beta$ 。A $\beta$ 被认为是AD发生的触发因素甚至是驱动因素,其产生和清除的失衡引起的A $\beta$ 沉积在AD的发病中起着关键作用<sup>[13]</sup>。“A $\beta$ 级联假说”由此提出,假说主张A $\beta$ 的异常触发AD病理改变发生,并导致后续的Tau蛋白聚集缠结、突触损伤、神经元死亡和认知障碍<sup>[14]</sup>。

Tau蛋白是一种高度可溶性的、天然非折叠状的微管相关蛋白,主要分布于轴突,与正常微管蛋白结合并促进其聚合形成微管,维持微管的稳定性<sup>[15]</sup>。在AD患者脑内,Tau蛋白发生过度磷酸化,使其与微管蛋白的结合力下降为正常Tau蛋白的1/10;同时,过度磷酸化的Tau蛋白发生错误折叠并异常聚集,形成非可溶性双螺旋丝或神经原纤维缠结,与正常Tau蛋白及微管相关蛋白竞争性结合微管蛋白,进一步导致微管解聚,破坏正常微管系统,干扰正常轴突转运和连接,最终引起神经元功能损伤乃至神经元死亡<sup>[16]</sup>。虽然在“A $\beta$ 级联假说”中,Tau蛋白的病理改变被认为是A $\beta$ 沉积的下游事件,但是,现有研究提示Tau蛋白和A $\beta$ 处于两条并列途径,两者可能由同一上游因素驱动,相互作用,加剧彼此的神经毒性,共同诱发AD<sup>[16]</sup>。研究认为,与朊病毒病相似,异常构象的A $\beta$ 和(或)Tau蛋白在AD发展过程中起着类似朊

蛋白的作用,其可作为毒性种子,诱导正常肽发生同样的错误折叠,从而导致异常构象的肽在全脑范围内散播<sup>[17-18]</sup>。

## 2 基于纳米技术的 A $\beta$ 靶向检测

A $\beta$  聚集沉积被认为是 AD 早期病理生理改变的关键因素<sup>[14]</sup>,目前,A $\beta$  已成为 AD 早期诊断的重要靶点。基于纳米技术的 A $\beta$  靶向检测的研究主要集中于脑脊液或生理溶液(如血浆、缓冲盐溶液、生理盐水等)中 A $\beta$  的体外检测以及靶向 A $\beta$  斑块的在体神经成像(表 1),在 AD 早期诊断中具有

良好的应用前景。

在各种高灵敏度的脑脊液 A $\beta$  检测技术中,Georganopoulou 等<sup>[19]</sup>建立了一种基于金纳米粒(gold nanoparticles, Au NPs)的生物条码测试方法,该方法具有高灵敏度和高效性。通过对 30 例 AD 患者脑脊液内 A $\beta$  来源的扩散性配体(即潜在可溶性 AD 致病标记物)的浓度检测,证实该方法的检验精度可高达 0.1 mol/L<sup>[19]</sup>。Elbassal 等<sup>[20]</sup>利用 Au NPs 的表面等离子体共振(surface plasma resonance, SPR)吸收带强度对 A $\beta$ 40 和 A $\beta$ 40 突变体低聚物的高度敏感性特点,用于检测 A $\beta$  纤维体

表 1 基于纳米技术的 A $\beta$  检测  
Table 1 Nanotechnology-based A $\beta$  detection

纳米材料	靶向配体	模型	作用机制	检测方式	给药途径	BBB 穿透力
Au NPs <sup>[20]</sup>	无	A $\beta$ 40 溶液	AuNPs 的 SPR 对 A $\beta$ 40 的数量敏感	SPR	无	无
LIP-NPs <sup>[21]</sup>	磷脂酸和心磷脂	A $\beta$ 1-42 溶液	磷脂酸和心磷脂结合 A $\beta$ 斑块	SPR	无	无
纳米脂质体 <sup>[22]</sup>	姜黄素	A $\beta$ 1-42 溶液	姜黄素结合 A $\beta$ 斑块	SPR	无	无
纳米脂质体 <sup>[23]</sup>	A $\beta$ 单克隆抗体	A $\beta$ 单体	A $\beta$ 单克隆抗体结合 A $\beta$ 斑块	SPR	无	无
PBCA-NPs <sup>[24]</sup>	<sup>125</sup> I-CQ	APP/PS1 转基因小鼠	<sup>125</sup> I-CQ 结合 A $\beta$ 斑块	放射自显影	尾静脉注射	穿透 BBB
USPIO NPs <sup>[25]</sup>	A $\beta$ 1-42 肽	APP/PS1 转基因小鼠	A $\beta$ 1-42 肽结合 A $\beta$ 斑块; USPIO 增加 MRI 像对比度	MRI	股静脉注射	颈动脉注射甘露醇提高 BBB 穿透力
Gd-DTPA <sup>[26]</sup>	A $\beta$ 1-40 肽	APP/PS1 转基因小鼠	A $\beta$ 1-40 肽结合 A $\beta$ 斑块; Gd-DTPA 增加 $\mu$ MRI 成像对比度	$\mu$ MRI	颈动脉注射	颈动脉注射甘露醇提高 BBB 穿透力
MION <sup>[27]</sup>	A $\beta$ 1-40 肽	APP/PS1 转基因小鼠	A $\beta$ 1-40 肽结合 A $\beta$ 斑块; MION 增加 $\mu$ MRI 成像对比度	$\mu$ MRI	颈动脉注射	颈动脉注射甘露醇提高 BBB 穿透力
Gd-DTPA <sup>[28]</sup>	K6A $\beta$ 1-30 肽	APP/PS1 转基因小鼠	A $\beta$ 1-30 肽结合 A $\beta$ 斑块; Gd-DTPA 增加 $\mu$ MRI 成像对比度	$\mu$ MRI	颈动脉注射	颈动脉注射甘露醇提高 BBB 穿透力
PA-LIP <sup>[29]</sup>	磷脂酸	溶液、体外 BBB 模型	磷脂酸结合 A $\beta$ 斑块	SPR	无	RI7217 提高 BBB 穿透力
PEG-PLA NPs <sup>[30]</sup>	QSH	ICR 小鼠	QSH 肽结合 A $\beta$ 斑块	荧光成像	尾静脉注射	TGN 提高 BBB 穿透力
MZF <sup>[31]</sup>	PiB	ICR 小鼠	PiB 结合 A $\beta$ 斑块; MZF 增加 MRI 成像对比度	MRI	尾静脉注射	无
USPIO NPs <sup>[32]</sup>	A $\beta$ 1-42 肽	APP/PS1 转基因小鼠	A $\beta$ 1-42 肽结合 A $\beta$ 斑块; USPIO 增加 $\mu$ MRI 成像对比度	$\mu$ MRI	股静脉注射	PEG 修饰提高 BBB 穿透力
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> @SLCONHR NPs <sup>[33]</sup>	SLCOOH	APP/PS1 转基因小鼠	SLCOOH 结合 A $\beta$ 斑块并作为 NIRI 探针; Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 增加 MRI 成像对比度	NIRI/MRI	尾静脉注射	穿透 BBB

注:表中, BBB: 血-脑屏障; Au: 金; NPs: 纳米粒; LIP: 脂质; A $\beta$ : amyloid- $\beta$ ; SPR: 表面等离子共振; PBCA: 聚正丁基-2-氰基丙烯酸酯; <sup>125</sup>I-CQ: <sup>125</sup>I-氯喹诺酮; APP:  $\beta$  淀粉样前体蛋白基因; PS1: 早老素 1 基因; USPIO NPs: 超小超顺磁性氧化铁纳米粒; MRI: 磁共振成像; Gd-DTPA: 钆-二乙胺乙酸;  $\mu$ MRI: 磁共振显微成像; MION: 单晶硅氧化物纳米粒; PA-LIP NPs: 磷脂酸-脂质纳米粒; RI7217: 一种抗转铁蛋白受体抗体; PEG: 聚乙二醇; PLA: 多聚乳酸; QSH: QSHYRHISPAQVC; TGN: TGNKALHPHNGC; MZF: Mn<sub>0.6</sub>Zn<sub>0.4</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; PiB: 匹兹堡化合物 B; SLCOOH: 卡巴唑型氰基近红外荧光探针; NIRI: 近红外荧光成像;。

和低聚物,结果显示,通过探测 Au NPs 的 SPR 吸收带强度和 SPR 强度改变,可半定量检测 A $\beta$ 40 水平并监测 A $\beta$ 40 突变体形成 A $\beta$  低聚物的动力学变化,为早期探测 A $\beta$ 40 自组装和纤维聚集体的生成提供可能。同时,利用不同分子,如 A $\beta$  结合肽或 A $\beta$  的高亲和化合物对 NPs 表面进行修饰,对实现早期 AD 检测、疾病进展监测和 AD 治疗效果评价等具有重要意义。近年来,大量研究使用各种 A $\beta$  靶向分子,包括磷脂酸和心磷脂<sup>[21]</sup>(在缓冲盐溶液中对 A $\beta$ 1-42 纤维聚集体的检测精度达 22~60 nmol/L)、姜黄素<sup>[22]</sup>(在血浆中对 A $\beta$ 1-42 纤维聚集体的检测精度达 1~5 nmol/L)、A $\beta$  单克隆抗体<sup>[23]</sup>(在缓冲盐溶液中对 A $\beta$ 1-42 纤维聚集体的检测精度达 500 pmol/L)等对 NPs 进行表面修饰,提高其对 A $\beta$  的亲合力和检测灵敏度。

基于 A $\beta$  斑块靶向的纳米成像探针的开发,对实现在体可视化脑内 A $\beta$  斑块分布和 AD 早期诊断具有重要作用。Roney 等<sup>[24]</sup>用<sup>125</sup>I 标记的 A $\beta$  高亲和力药物氯碘喹啉(clioquinol, CQ)修饰聚合物正丁基-2-氰基丙烯酸酯(polymeric n-butyl-2-cyanoacrylate, PBCA) NPs 表面,进行活体放射自显影成像,研究结果显示,修饰改良后的 NPs 可以穿透 BBB,与转基因小鼠脑内 A $\beta$  斑块特异性结合。A $\beta$ , 如 A $\beta$ 1-42、A $\beta$ 1-40 或 A $\beta$  同源体可与 A $\beta$  斑块特异性结合,故经 A $\beta$  或 A $\beta$  同源体表面修饰的磁性纳米材料可成为 A $\beta$  靶向的 MRI 探针。颈动脉注射甘露醇后暂时渗透性开放小鼠 BBB,同时经股静脉注射经 A $\beta$ 1-42 肽修饰的超顺磁性氧化铁(ultrasmall superparamagnetic iron oxide, USPIO),可以用于探测转基因 AD 小鼠脑内 A $\beta$  斑块的分布<sup>[25]</sup>。经颈动脉同时注射甘露醇(暂时性开放 BBB)和 A $\beta$ 1-40 磁性标记的钆-二乙胺乙酸(gadolinium-diethylenetriaminepentaacetic acid, Gd-DTPA)<sup>[26-27]</sup>或单晶硅氧化物纳米颗粒(monocrystalline iron oxide nanoparticles, MION)<sup>[27]</sup>,可用于 APP/PS1 转基因 AD 小鼠脑内 A $\beta$  斑块的活体 MRI 成像。A $\beta$  的无毒同源体 K6A $\beta$ 1-30 标记的 Gd-DTPA<sup>[28]</sup>也可作为 A $\beta$  斑块的靶向 MRI 纳米探针,动脉注射该纳米探针,同时颈动脉注射甘露醇暂时性开放 BBB,可以实现活体转基因小鼠脑内 A $\beta$  斑块分布的可视化。

A $\beta$  靶向配体和 BBB 配体的双功能化修饰,可

同时增加 NPs 的 A $\beta$  亲和力和 BBB 穿透力。Salvati 等<sup>[29]</sup>对纳米脂质体表面进行磷脂酸(结合 A $\beta$ )和抗转铁蛋白受体抗体 RI7217(穿透 BBB)双功能化修饰,其中,经 RI7217 修饰的纳米脂质体可与 BBB 内皮细胞高表达转铁蛋白受体特异性结合,通过受体介导的内吞作用介导纳米通过主动转运穿透 BBB,靶向 A $\beta$  聚集体或斑块。结果显示,该双功能化纳米脂质体在体外 BBB 模型中的穿透力增强,且对 A $\beta$  聚集体具有高度亲和力。类似地,经靶向 A $\beta$ 1-42 结合肽(QSHYRHISPAQVC)和靶向 BBB 配体(TGNYKALHPHNGC)双重修饰的聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)-多聚乳酸(poly-lactic acid, PLA) NPs 可以穿透 BBB,与 A $\beta$  斑块精准结合,在 AD 模型小鼠脑中实现亚微摩尔级别的 A $\beta$  斑块检测<sup>[30]</sup>。甲氧基-XO4 为高度特异性的 A $\beta$  斑块配体,纳米脂质体表面经 XO4 修饰后,可作为一个靶向 A $\beta$  斑块的荧光标志物,经尾静脉注射入 APP/PS1 小鼠后,该纳米脂质体能够穿透 BBB,并与脑实质区和脑血管区的 A $\beta$  斑块结合,从而实现 A $\beta$  斑块的在体可视化<sup>[30]</sup>。

Zeng 等<sup>[31]</sup>将 A $\beta$  靶向的匹兹堡化合物 B (Pittsburgh compound B, PiB)对 Mn<sub>0.6</sub>Zn<sub>0.4</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (MZF)进行修饰,结果显示该修饰后的纳米粒具有良好的稳定性、生物相容性和超顺磁性,可作为 A $\beta$  靶向的 MRI 造影剂与 6 月龄的转基因 AD 小鼠脑内 A $\beta$  斑块特异性结合。Wadghiri 等<sup>[32]</sup>将 A $\beta$  斑块靶向的磁性 USPIO-A $\beta$ 1-42 NPs 进行 PEG 修饰,提高其 BBB 穿透力,结果显示,经静脉注射 USPIO-PEG-A $\beta$ 1-42 NPs 可实现转基因 AD 小鼠脑内活体 A $\beta$  斑块 MR 成像,而且无需同时注射甘露醇等增加 BBB 渗透性的制剂。

另有研究将 A $\beta$  靶向的特异性卡巴唑型氰基近红外荧光探针(SLCOOH)结合至超顺磁性氧化铁 NPs(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@SLCONHR NPs)上,赋予该 NPs 近红外荧光成像和 MRI 的双模态成像能力,结果显示,该探针不仅无毒,且具有高度的 BBB 穿透力,同时能对抗 A $\beta$  诱导的神经毒性,发挥神经保护作用;在 APP/PS1 转基因小鼠模型中,该纳米探针具有高灵敏度、高特异度和高对比度,可实现模型小鼠脑内 A $\beta$  沉积的活体近红外荧光和 MR 的双模态成像<sup>[33]</sup>。

因此,纳米技术作为一种富有前景的 A $\beta$  靶向

探测的新兴技术,可用于溶液和活体动物中 A $\beta$  的检测,未来,基于纳米技术的纳米材料的开发和完善对实现精准探测 A $\beta$  具有重要意义。

### 3 基于纳米技术的 Tau 蛋白检测

Tau 蛋白探测也是实现 AD 早期诊断的重要方法。有研究认为, Tau 蛋白的病变水平与 AD 患者的认知损伤程度密切相关<sup>[34]</sup>。因此,基于纳米技术的 Tau 蛋白靶向检测(表 2)对实现 AD 早期诊断具有重要意义。

Neely 等<sup>[35]</sup> 基于 Au NPs 的双光子瑞利散射特性,首次将经单克隆抗 Tau 蛋白抗体修饰的 Au NPs 用于探测 Tau 蛋白水平,发现该 Au NPs 可以高灵敏和高特异地探测 Tau 蛋白水平(1 pg/mL);而且, Au NPs 表面经抗 Tau 蛋白抗体修饰后,其双光子瑞利散射强度增加约 16 倍,能够从富含多种蛋白成分的脑脊液中快速轻易地识别 Tau 蛋白。有研究者将经抗 Tau 蛋白单克隆抗体和寡核苷酸模板表面修饰的 Au NPs 用于人脑脊液样本中 Tau 蛋白的免疫 PCR 检测,结果显示,与传统的酶联免疫吸附检测方法相比,基于 Au NPs 的免疫 PCR 检测方法具有更高的灵敏度<sup>[36]</sup>。另有研究将经多克隆抗 Tau 蛋白修饰的 Au NPs(识别 Tau 蛋白)与经单克隆抗 Tau 蛋白抗体功能化的磁性 NPs(表面增强拉曼散射)结合,用于双抗体夹心酶联免疫吸附实验检测 Tau 蛋白水平,结果显示,基于 Au NPs 的双抗体夹心酶联免疫吸附检测方法具有超高的灵敏度和选择性,其对 Tau 蛋白的检测限值甚至低于 25 fmol/L<sup>[37]</sup>。我们团队用具有 MRI 增强作用的超小氧化铁纳米晶修饰介孔氧化

硅表面,同时标记放射性核素<sup>68</sup>Ga 并连接靶向 Tau 聚集体的配体 T807,结果显示,该 NPs 能有效地结合 Tau 蛋白聚集体,并通过 MRI 和 PET 的双模态成像有效地实现靶向 Tau 蛋白检测和<sup>[38]</sup>。

Tau 蛋白与早期 AD 的病理改变密切相关。目前的一些方法,如神经成像、酶联免疫吸附实验和 PCR 可以检测病理性 Tau 蛋白,但由于需要高度专业的知识、操作复杂且检测效率较低,这些方法尚未得到广泛的应用<sup>[7]</sup>。未来,应用纳米技术实现分子水平的 Tau 蛋白精准检测,对加速 NPs 临床应用转化和改善 AD 患者疾病转归具有重要意义。

### 4 总结与展望

AD 是一种常见的神经退行性疾病,起病隐匿,病程长,并且病理过程复杂。目前普遍认为, A $\beta$  的异常沉积和 Tau 蛋白的异常缠结与 AD 的发生密切相关,为 AD 早期的特征性生物标志物。基于纳米技术的纳米材料组装,赋予纳米材料独特的功能和生物学效应,纳米技术的发展为实现脑脊液或生理溶液(如血浆、缓冲盐溶液、生理盐水等)中 A $\beta$  或 Tau 蛋白的体外精准检测以及脑内 A $\beta$  或 Tau 蛋白的活体靶向神经成像开辟了一条新的道路。然而,作为新兴的技术手段,一方面,纳米材料的生物降解、生物分布、生物相容性及长期生物安全性等仍待评估,技术方面需要不断改进;另一方面,纳米材料对 AD 的诊断应用绝大部分仍处于临床前研究阶段,需要进一步的相关临床数据以促进其临床转化。在不久的将来,随着纳米技术的发展,纳米技术或将成为 AD 早期诊断的有效工具。

表 2 基于纳米技术的 Tau 蛋白检测  
Table 2 Nanotechnology-based Tau detection

纳米材料	靶向配体	模型	作用机制	检测方式	给药途径	BBB穿透力
Au NPs <sup>[35]</sup>	单克隆抗 Tau 蛋白抗体	Tau 蛋白溶液	单克隆抗 Tau 蛋白抗体结合 Tau 蛋白	双光子瑞利散射方法	无	无
Au NPs <sup>[36]</sup>	单克隆抗 Tau 蛋白抗体	人脑脊液	单克隆抗 Tau 蛋白抗体结合 Tau 蛋白;寡核苷酸模板用于 PCR 检测	PCR	无	无
MNPs 及 Au NPs <sup>[37]</sup>	多/单克隆抗 Tau 蛋白抗体	Tau 蛋白溶液	多和(或)单克隆抗 Tau 蛋白抗体结合 Tau 蛋白	双抗体夹心酶联免疫吸附实验	无	无
CeNC/IONC/MSN-MB <sup>[38]</sup>	T807	Tau 病理大鼠	T807 结合 Tau 聚集体	MRI 及 PET	脑室注射	无

注:表中, AuNPs: 金纳米粒; BBB: 血-脑屏障; PCR: 聚合酶链式反应; MNPs: 磁性纳米粒; CeNC/IONC/MSN-MB: 二氧化铈纳米晶体/氧化铁纳米晶体/介孔二氧化硅纳米粒子-亚甲蓝; MRI: 磁共振成像; PET: 正电子发射型断层成像。

**利益冲突** 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

**作者贡献声明** 张凯负责查阅文献和论文的撰写;施可欣负责论文表格的制作和参考文献格式的修改;金晨涛负责论文的排版和修改;田梅负责命题的提出和论文的审阅;张明荣负责论文的审阅;张宏负责命题的提出和论文的审阅。

### 参 考 文 献

- [1] Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2016, 388(10043): 505–517. DOI: [10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1).
- [2] Patterson, C. World Alzheimer Report 2018. The State of the Art of Dementia Research: New Frontiers. An Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends[R]. London: Alzheimer's Disease International, 2018: 1–48.
- [3] Dubois B, Feldman HH, Jacova C, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(6): 614–629. DOI: [10.1016/s1474-4422\(14\)70090-0](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(14)70090-0).
- [4] Epelbaum S, Genthon R, Cavado E, et al. Preclinical Alzheimer's disease: A systematic review of the cohorts underlying the concept[J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(4): 454–467. DOI: [10.1016/j.jalz.2016.12.003](https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.12.003).
- [5] Hajipour MJ, Santoso MR, Rezaee F, et al. Advances in Alzheimer's Diagnosis and Therapy: The Implications of Nanotechnology[J]. *Trends Biotechnol*, 2017, 35(10): 937–953. DOI: [10.1016/j.tibtech.2017.06.002](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.06.002).
- [6] Kumar A, Tan A, Wong J, et al. Nanotechnology for Neuroscience: Promising Approaches for Diagnostics, Therapeutics and Brain Activity Mapping[J]. *Adv Funct Mater*, 2017, 27(39): 1700489. DOI: [10.1002/adfm.201700489](https://doi.org/10.1002/adfm.201700489).
- [7] Zhang WY, Wang WY, Yu DX, et al. Application of nanodiagnostics and nanotherapy to CNS diseases[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2018, 13(18): 2341–2371. DOI: [10.2217/nmm-2018-0163](https://doi.org/10.2217/nmm-2018-0163).
- [8] Baik SH, Kang S, Son SM, et al. Microglia contributes to plaque growth by cell death due to uptake of amyloid  $\beta$  in the brain of Alzheimer's disease mouse model[J]. *Glia*, 2016, 64(12): 2274–2290. DOI: [10.1002/glia.23074](https://doi.org/10.1002/glia.23074).
- [9] Jagust W. Is amyloid- $\beta$  harmful to the brain? Insights from human imaging studies[J]. *Brain*, 2016, 139(1): 23–30. DOI: [10.1093/brain/awv326](https://doi.org/10.1093/brain/awv326).
- [10] Wang YP, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(1): 22–35. DOI: [10.1038/nrn.2015.1](https://doi.org/10.1038/nrn.2015.1).
- [11] Karch CM, Goate AM. Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis[J]. *Biol Psychiat*, 2015, 77(1): 43–51. DOI: [10.1016/j.biopsych.2014.05.006](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.05.006).
- [12] Szaruga M, Veugelen S, Benurwar M, et al. Qualitative changes in human  $\gamma$ -secretase underlie familial Alzheimer's disease[J]. *J Exp Med*, 2015, 212(12): 2003–2013. DOI: [10.1084/jem.20150892](https://doi.org/10.1084/jem.20150892).
- [13] Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, et al. Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease[J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(8): 457–470. DOI: [10.1038/nrneuro.2015.119](https://doi.org/10.1038/nrneuro.2015.119).
- [14] Makin S. The amyloid hypothesis on trial[J]. *Nature*, 2018, 559(S7715): S4–7. DOI: [10.1038/d41586-018-05719-4](https://doi.org/10.1038/d41586-018-05719-4).
- [15] Polanco JC, Li CZ, Bodea LG, et al. Amyloid- $\beta$  and tau complexity-towards improved biomarkers and targeted therapies[J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(1): 22–39. DOI: [10.1038/nrneuro.2017.162](https://doi.org/10.1038/nrneuro.2017.162).
- [16] Small SA, Duff K. Linking A $\beta$  and Tau in Late-Onset Alzheimer's Disease: A Dual Pathway Hypothesis[J]. *Neuron*, 2008, 60(4): 534–542. DOI: [10.1016/j.neuron.2008.11.007](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.11.007).
- [17] Goedert M. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A $\beta$ , tau, and  $\alpha$ -synuclein[J]. *Science*, 2015, 349(6248): 1255–1255. DOI: [10.1126/science.1255555](https://doi.org/10.1126/science.1255555).
- [18] Mudher A, Colin M, Dujardin S, et al. What is the evidence that tau pathology spreads through prion-like propagation?[J/OL]. *Acta Neuropathol Commun*, 2017, 5(1): 99 [2018-06-15]. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5735872/pdf/40478\\_2017\\_Article\\_488.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5735872/pdf/40478_2017_Article_488.pdf). DOI: [10.1186/s40478-017-0488-7](https://doi.org/10.1186/s40478-017-0488-7).
- [19] Georganopoulou DG, Chang L, Nam JM, et al. Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(7): 2273–2276. DOI: [10.1073/pnas.0409336102](https://doi.org/10.1073/pnas.0409336102).
- [20] Elbassal EA, Morris C, Kent TW, et al. Gold Nanoparticles as a Probe for Amyloid-B Oligomer and Amyloid Formation[J]. *J Phys Chem C*, 2017, 121(36): 20007–20015. DOI: [10.1021/acs.jpcc.7b05169](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b05169).
- [21] Gobbi M, Re F, Canovi M, et al. Lipid-based nanoparticles with high binding affinity for amyloid- $\beta_{1-42}$  peptide[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(25): 6519–6529. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2010.04.044](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.044).
- [22] Mourtas S, Canovi M, Zona C, et al. Curcumin-decorated nanoliposomes with very high affinity for amyloid- $\beta_{1-42}$  peptide[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(6): 1635–1645. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2010.10.027](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.10.027).
- [23] Canovi M, Markoutsas E, Lazar AN, et al. The binding affinity of anti-A $\beta_{1-42}$  MAb-decorated nanoliposomes to A $\beta_{1-42}$  peptides *in vitro* and to amyloid deposits in post-mortem tissue[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(23): 5489–5497. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2011.04.020](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.04.020).
- [24] Roney CA, Arora V, Kulkarni PV, et al. Nanoparticulate Radiolabelled Quinolines Detect Amyloid Plaques in Mouse Models of Alzheimer's Disease[J/OL]. *Int J Alzheimers Dis*, 2009, 2009: 481031 [2018-06-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2915660/pdf/IJAD2009-481031.pdf>.

- DOI: [10.4061/2009/481031](https://doi.org/10.4061/2009/481031).
- [25] Yang J, Wadghiri YZ, Hoang DM, et al. Detection of amyloid plaques targeted by USPIO-A $\beta$ 1-42 in Alzheimer's disease transgenic mice using magnetic resonance microimaging[J]. *NeuroImage*, 2011, 55(4): 1600-1609. DOI: [10.1016/j.neuroimage.2011.01.023](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.01.023).
- [26] Scholtzova H, Wadghiri YZ, Douadi M, et al. Memantine leads to behavioral improvement and amyloid reduction in Alzheimer's-disease-model transgenic mice shown as by micromagnetic resonance imaging[J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(12): 2784-2791. DOI: [10.1002/jnr.21713](https://doi.org/10.1002/jnr.21713).
- [27] Wadghiri YZ, Sigurdsson EM, Sadowski M, et al. Detection of Alzheimer's amyloid in transgenic mice using magnetic resonance microimaging[J]. *Magn Reson Med*, 2003, 50(2): 293-302. DOI: [10.1002/mrm.10529](https://doi.org/10.1002/mrm.10529).
- [28] Sigurdsson EM, Wadghiri YZ, Mosconi L, et al. A non-toxic ligand for voxel-based MRI analysis of plaques in AD transgenic mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2008, 29(6): 836-847. DOI: [10.1016/j.neurobiolaging.2006.12.018](https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.12.018).
- [29] Salvati E, Re F, Sesana S, et al. Liposomes functionalized to overcome the blood-brain barrier and to target amyloid- $\beta$  peptide: the chemical design affects the permeability across an in vitro model[J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8(1): 1749-1758. DOI: [10.2147/IJN.S42783](https://doi.org/10.2147/IJN.S42783).
- [30] Zhang C, Wan X, Zheng XY, et al. Dual-functional nanoparticles targeting amyloid plaques in the brains of Alzheimer's disease mice[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(1): 456-465. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2013.09.063](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.09.063).
- [31] Zeng JQ, Wu JQ, Li MH, et al. A Novel Magnetic Nanoparticle for Early Detection of Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease[J]. *Arch Med Res*, 2018, 49(4): 282-285. DOI: [10.1016/j.arcmed.2018.09.005](https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.09.005).
- [32] Wadghiri YZ, Li JL, Wang JH, et al. Detection of Amyloid Plaques Targeted by Bifunctional USPIO in Alzheimer's Disease Transgenic Mice Using Magnetic Resonance Microimaging [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57097 [2018-06-15]. <https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC3584149&blobtype=pdf>. DOI: [10.1371/journal.pone.0057097](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057097).
- [33] Li YH, Xu D, Chan HN, et al. Dual-Modal NIR-Fluorophore Conjugated Magnetic Nanoparticle for Imaging Amyloid- $\beta$  Species In Vivo[J]. *Small*, 2018, 14(28): e1800901. DOI: [10.1002/sml.201800901](https://doi.org/10.1002/sml.201800901).
- [34] Bejanin A, Schonhaut DR, La Joie R, et al. Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer's disease[J]. *Brain*, 2017, 140(12): 3286-3300. DOI: [10.1093/brain/awx243](https://doi.org/10.1093/brain/awx243).
- [35] Neely A, Perry C, Varisli B, et al. Ultrasensitive and Highly Selective Detection of Alzheimer's Disease Biomarker Using Two-Photon Rayleigh Scattering Properties of Gold Nanoparticle[J]. *ACS Nano*, 2009, 3(9): 2834-2840. DOI: [10.1021/nn900813b](https://doi.org/10.1021/nn900813b).
- [36] Stegurová L, Dráberová E, Bartos A, et al. Gold nanoparticle-based immuno-PCR for detection of tau protein in cerebrospinal fluid[J]. *J Immunol Methods*, 2014, 406: 137-142. DOI: [10.1016/j.jim.2014.03.007](https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.03.007).
- [37] Zengin A, Tamer U, Caykara T. A SERS-Based Sandwich Assay for Ultrasensitive and Selective Detection of Alzheimer's Tau Protein[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(9): 3001-3009. DOI: [10.1021/bm400968x](https://doi.org/10.1021/bm400968x).
- [38] Chen Q, Du Y, Zhang K, et al. Tau-Targeted Multifunctional Nanocomposite for Combinational Therapy of Alzheimer's Disease[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(2): 1321-1338. DOI: [10.1021/acsnano.7b07625](https://doi.org/10.1021/acsnano.7b07625).

(收稿日期: 2019-06-15)

## 热烈祝贺

中国医学科学院放射医学研究所成立六十周年