

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230531

· 综述 ·

## 纳米医学结合靶向基因治疗阿尔茨海默病的现状、挑战与未来

梁文丹琪<sup>1,2</sup>, 郝梦琪<sup>1,2</sup>, 古源楷<sup>2</sup>, 卢欣宇<sup>2</sup>, 季文博<sup>2</sup>, 庄建华<sup>2</sup>, 尹 又<sup>2\*</sup>

1. 上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200003

2. 海军军医大学(第二军医大学)第二附属医院神经内科, 上海 200003

**[摘要]** 阿尔茨海默病(AD)是一种神经退行性疾病,以认知、情感、语言和记忆的进行性损害为主要特征。现有的AD治疗手段主要是药物治疗,但药物治疗仅能缓解其症状,并不能有效延缓病情进展。因此,探索有效治疗AD的手段至关重要。研究证实,基因突变和家族遗传与AD的发生、发展密切相关,且基因治疗在AD动物模型中已有所进展。但普通药物与一些小分子药物常因无法穿越血脑屏障难以在脑内发挥作用,而纳米载体则能通过免疫逃逸等方法解决这一问题。本文综述与AD相关的基因治疗策略,总结现有的基因疗法与纳米医学相结合的AD治疗理论,为AD的临床治疗提供新思路。

**[关键词]** 阿尔茨海默病; 基因治疗; 纳米医学; 靶向治疗

**[引用本文]** 梁文丹琪, 郝梦琪, 古源楷, 等. 纳米医学结合靶向基因治疗阿尔茨海默病的现状、挑战与未来[J]. 海军军医大学学报, 2024, 45(6): 748-755. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230531.

### Nanomedicine plus targeted gene therapy for Alzheimer's disease: current situation, challenges, and future

LIANG Wendanqi<sup>1,2</sup>, HAO Mengqi<sup>1,2</sup>, GU Yuankai<sup>2</sup>, LU Xinyu<sup>2</sup>, JI Wenbo<sup>2</sup>, ZHUANG Jianhua<sup>2</sup>, YIN You<sup>2\*</sup>

1. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200003, China

2. Department of Neurology, The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

**[Abstract]** Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by progressive impairment of cognition, emotion, language, and memory. Existing treatments for AD are mainly pharmacological treatments, but they can only improve patients' clinical symptoms and cannot effectively slow down the progression of the disease. Therefore, finding effective treatments for AD is urgent. Research has confirmed that gene mutation and family inheritance are closely related to the development and progression of AD, and gene therapy has made some progress in animal models of AD. Common drugs and some small molecule drugs are often unable to enter the brain through the blood-brain barrier, while nanocarriers can solve this problem through immune escape or other methods. In this paper, we review the gene therapy strategies related to AD and summarize the existing gene therapy and nanomedicine combination of AD therapeutic theories, so as to provide new ideas for the clinical treatment of AD.

**[Key words]** Alzheimer's disease; gene therapy; nanomedicine; targeted therapy

**[Citation]** LIANG W, HAO M, GU Y, et al. Nanomedicine plus targeted gene therapy for Alzheimer's disease: current situation, challenges and future[J]. Acad J Naval Med Univ, 2024, 45(6): 748-755. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230531.

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以记忆缺陷和认知功能减退为特征的神经退行性疾病,其主要神经病理学特征为神经元外 $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid protein, A $\beta$ )聚集成老年斑,以及细胞内高磷酸化Tau蛋白积累形成神经原纤维缠结。这些神经病理变化的潜在机制尚不清楚,目

前主流的观点认为是由遗传和环境因素共同作用引起<sup>[1]</sup>。包括AD在内的痴呆症是全球第五大死因,可造成每年240万人死亡<sup>[2]</sup>。鉴于目前临床上对AD尚无有效的治疗药物以及人口老龄化问题的不断加剧,痴呆症病例数量在未来几十年里预计将显著增长<sup>[3]</sup>。如果没有新的AD治疗方法,越来越

[收稿日期] 2023-09-21 [接受日期] 2024-03-19

[基金项目] 上海市自然科学基金(22ZR147750),海军军医大学(第二军医大学)第二附属医院创新型临床研究项目(2020YLCYJ-Y02)。Supported by Natural Science Foundation of Shanghai (22ZR147750) and Innovative Clinical Research Project of The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University) (2020YLCYJ-Y02).

[作者简介] 梁文丹琪, 硕士生. E-mail: liangwendanqi@foxmail.com

\*通信作者( Corresponding author ). Tel: 021-81885463, E-mail: yinyou179@163.com

的AD患病率将给整个医疗系统带来负担。

已上市的常规药物(如多奈哌齐等)只能改善AD的临床症状,并不能有效延缓病情进展。AD药物开发的失败揭示了这种疾病的复杂性和目前AD神经药理学研究正面临的挑战。随着对AD遗传学研究的深入,基因疗法或许可以从根本上治疗AD并能避免长期用药带来的不良反应,结合基因疗法在其他疾病领域的成果,目前成为了一种很有希望治愈的AD治疗方法。

根据有无阳性家族史及基因测序结果,AD可分为家族性AD和散发性AD。载脂蛋白E(apolipoprotein E, *ApoE*)基因、烟酰胺单核苷酸腺苷酰转移酶3基因、簇集蛋白基因等是散发性AD发病的主要基因<sup>[4]</sup>。其中,已有确切研究证据表明包含ApoE $\epsilon$ 4纯合型基因增加了该基因携带者散发性AD的患病风险。而目前公认的家族性AD涉及的致病基因有早老素1(presenilin 1, *PS-1*)基因、淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, *APP*)基因和早老素2(presenilin 2, *PS-2*)基因<sup>[4]</sup>。因此基因疗法是现在研究AD治疗手段的新方向。

血脑屏障的存在使众多药物无法进入神经系统组织内发挥作用,严重限制了AD治疗性药物的研发和应用。近些年来,纳米技术在疾病诊断、治疗等方面的应用日益广泛,在纳米药物和纳米给药系统等方面取得了重大突破,尤其是在纳米技术与肿瘤医学相结合方面取得了显著的成果。因此,纳米医学的发展为医学技术的发展带来了新的动力和思路。而基因疗法与纳米医学的结合在其他领域的进展也为AD治疗带来新的方向。

## 1 AD病理假说与基因治疗中的相关基因靶点

AD的多种病理假说为基因治疗提供了大量潜在靶点,这些靶点包括A $\beta$ 生成密切相关的蛋白[ $\beta$ 淀粉样前体蛋白裂解酶1(beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1, *BACE1*)<sup>[5-7]</sup>和*APP*<sup>[8]</sup>]、支持和维持神经元健康/生长与影响胆碱能的神经营养因子[脑源性神经营养因子<sup>[9-10]</sup>和神经生长因子(nerve growth factor, *NGF*)<sup>[11-12]</sup>]、*ApoE*及与A $\beta$ 降解相关的酶(如组织蛋白酶B与脑啡肽酶)<sup>[13-17]</sup>。以这些基因为目标的AD相关基因治疗研究结果见表1。

### 1.1 淀粉样蛋白级联假说 淀粉样蛋白级联假说

是由McKhann等<sup>[18]</sup>提出,该假说认为可溶性A $\beta$ 聚集体是产生神经毒性、造成认知功能紊乱的主要形式<sup>[19]</sup>,A $\beta$ 的聚集与沉积导致老年斑的形成,可直接作用于神经元产生毒性,也可激活脑内的小胶质细胞和星形胶质细胞产生炎症因子<sup>[20]</sup>。*BACE1*在产生A $\beta$ 方面至关重要,无论是生理量还是病理量。*BACE1*通过在 $\beta$ -分泌酶位点切割APP来启动A $\beta$ 单体的产生<sup>[21]</sup>。 $\gamma$ -分泌酶复合物的进一步切割导致A $\beta$ 单体可能聚集在一起,产生有毒的寡聚体和原纤维,最终形成淀粉样斑块<sup>[22]</sup>。据报道,在AD患者尸检的大脑组织中*BACE1*水平升高,这意味着*BACE1*升高会增加A $\beta$ 的形成,并推动疾病的初始进展<sup>[23]</sup>。

### 1.2 胆碱能与NGF

现已能确定AD患者中枢神经系统的乙酰胆碱酯酶和乙酰胆碱的合成与释放均有缺陷<sup>[24]</sup>,所以,增加神经中枢内的胆碱能递质浓度就可以改善AD患者认知功能。现在胆碱酯酶抑制剂已被广泛应用于AD患者以解决AD造成的认知障碍及其他临床症状<sup>[25]</sup>。第一个被鉴定的生长因子NGF作用于基底前脑胆碱能神经细胞(其中最重要的是Meynert基底核),并支持其正常生理功能,在海马和皮质区域提供大量的乙酰胆碱释放<sup>[26]</sup>,在AD中这些神经细胞急剧恶化,导致认知能力下降。NGF缺乏促进胆碱能异常<sup>[27]</sup>。由于NGF不能有效地通过血脑屏障,目前已经使用了在AD患者大脑中注射转基因细胞或病毒载体或在Meynert基底核中植入包封细胞的方法,这些尝试取得了部分成功,但也有局限性<sup>[28]</sup>。

## 2 纳米医学在AD基因疗法中的应用

基因疗法可以增加相关酶的活性,也可以调控低水平的生物活性物质的表达。相对于其他药物治疗方法,基因治疗具有潜在的好处和优势,例如基因表达选择性、安全性和高效性<sup>[29]</sup>。基因疗法已经在许多AD动物模型进行探索,并取得了令人鼓舞的结果。2005年公布的第一个采用离体基因疗法(与NGF相关)的临床试验结果表明:离体基因治疗组AD患者的认知能力、大脑代谢活动和胆碱能神经元的形态状态都有所改善<sup>[30-31]</sup>。研究表明,NGF基因治疗可以减轻AD的临床和行为表现<sup>[32]</sup>。siRNA在基因治疗中的应用最近引起了相当大的关注,因为它能够特异性下调目标基因,并

且其治疗靶点的数量巨大,甚至包括某些曾被认为是不可成药的靶点。涉及疾病病理、单个基因和病毒病原体的基因是RNA干扰的候选基因<sup>[29]</sup>。RNA干扰通过使用转录后基因沉默机制调节蛋白质生产来调节基因表达,双链RNA的较长部分可分裂成

siRNA片段并激活RNA干扰。siRNA是最适合于针对编码蛋白质的基因进行短期沉默的手段<sup>[33]</sup>。然而,选择不恰当的给药方式或者递送载体都可能会改变siRNA的药代动力学特性,降低基因沉默活性,并增加脱靶效应<sup>[34]</sup>。

表1 AD相关基因治疗中的潜在靶向基因

目标基因	针对AD病理变化	基因传递的类型	基因治疗结果	局限性	文献
<i>BACE1</i>	Aβ生成	慢病毒载体递送 <i>BACE1</i> siRNA	减少Aβ积累	与其他蛋白酶相比, <i>BACE1</i> 的活性位点具有亲水性和可及性,因此必须消除其作用。但该研究没有侧重于该方向	[5]
<i>BACE1</i>	Aβ生成	基于AAV的单域抗体载体递送	有利地影响淀粉样蛋白负荷、神经炎症、突触和认知功能	—	[6]
<i>BACE1</i>	神经营养作用和Aβ启动	AAV矢量系统	小鼠免受衰老引起的认知障碍的影响	—	[7]
<i>NGF</i>	神经营养作用	离体基因递送	引起退化神经元的激活和细胞肥大	很难安全地将 <i>NGF</i> 输送到大脑	[11]
<i>NGF</i>	神经营养作用	内嗅皮质BDNF输送	恢复认知,部分恢复异常基因表达,增强细胞信号转导,修复突触缺失	—	[12]
<i>BDNF</i>	神经营养作用	慢病毒介导的 <i>BDNF</i> 基因递送	增加突触蛋白水平,增强学习和记忆,减少神经变性	<i>BDNF</i> 水平及其mRNA的改变不一致	[9]
<i>BDNF</i>	神经营养作用	基于慢病毒的组织蛋白酶B递送	在神经保护和抗淀粉样蛋白免疫原性中的作用	—	[10]
组织蛋白酶B	Aβ降解	基因敲除	成功降低Aβ40与Aβ42,这两种Aβ在大多数AD患者中都有表达	—	[15]
组织蛋白酶B	Aβ降解	单纯疱疹病毒递送siRNA沉默基因	APP下调	研究结果没有解决如果微管相关蛋白Tau在较长时间内表达,该模型是否会复制类似于AD中观察到的更广泛的病理改变	[14]
<i>APP</i>	Aβ生成	表达ApoE亚型的慢病毒载体的基因递送	海马Aβ水平降低	该研究结果显示,慢病介导下的ApoE3和ApoE4都没有显著降低大脑Aβ负荷	[8]
<i>ApoE2</i>	Aβ负担	AAVrh.10介导的 <i>ApoE2</i> 基因递送	刺激局部ApoE2表达	—	[13]
<i>ApoE2</i>	Aβ负担	单纯疱疹病毒载体介导的NEP表达	通过降解总Aβ降低Aβ40负担	没有解决NEP在AD转基因小鼠体内过度表达的长期后果	[14]
<i>NEP</i>	神经保护和改善记忆功能	NEP的慢病毒载体递送	降低总Aβ肽水平并减少Aβ斑块的形成	未讨论在Aβ斑块形成之前NEP慢病毒在大脑中表达增加的影响	[16]
<i>NEP</i>	神经保护和改善记忆功能	表达人NEP的病毒载体	通过分裂原纤维调节Aβ沉积	没有解决由于可能的原纤维分裂,致低聚物含量升高	[17]

“—”:文献中未提及相关内容。AD:阿尔茨海默病;BACE1:β淀粉样前体蛋白裂解酶1;Aβ:β-淀粉样蛋白;siRNA:干扰小RNA;AAV:腺相关病毒;NGF:神经生长因子;BDNF:脑源性神经营养因子;APP:淀粉样蛋白前体蛋白;ApoE:载脂蛋白E;NEP:脑啡肽酶。

尽管基因疗法在治疗神经系统疾病方面具有明显的优势,然而在血液中的稳定性差、血脑屏障穿透能力差和细胞摄取乏力等因素限制了其治疗效果,因此需要开发一种递送基因治疗药物的载体,该载体可以保护药物免受血液中的早期破坏,同时能有效地将药物穿透血脑屏障后递送到大脑的病变区域<sup>[29]</sup>。在神经系统疾病的治疗,特别是在AD的

治疗中,传统的药物因很难顺利通过血脑屏障并对神经组织进行作用,且存在药物毒性和不良反应的问题而逐渐使人们将研究的重点转向其他治疗手段,将纳米技术与基因疗法相结合已成为一种可能的解决方案。与常规药物相比,纳米药物在许多方面具有明显的优势:(1)为治疗药物在血液中的转运提供了良好的载体平台,并通过血脑屏障渗透到



中樞神經系統; (2) 提高治療藥物的生物相容性, 納米載體本身具有生物相容性和生物降解性; (3) 提高治療藥物在血液和组织中的穩定性, 避免酶過早降解; (4) 通過藥物的連續釋放, 提高藥代動力學和藥代動力學指標, 延長半衰期和作用時間; (5) 有效降低藥物用量、用藥頻率和不良反應發生率。納米藥物載體不僅可以有效搭載實驗藥物, 且其靶向性也相對傳統藥物更為有效, 人們將普通的基因療法的重點逐漸轉向了可搭載高效藥物且更具有靶向特征的納米藥物研發。納米藥物在動物實驗中所顯示出的毒性相對傳統藥物更少, 不良反應也相對低於傳統藥物, 其靶向性有望提高AD基因藥物的療效。

納米藥物載體的核心成分包括各種各樣的材料, 如脂類、聚合物和金屬, 它們可以封裝具有不同化學性質的分子。此外, 這些納米顆粒可以促進生物活性分子的保護和傳遞, 從而降低其潛在毒性, 進而提高其溶解性、穩定性、生物分布和藥代動力學。封裝在納米顆粒中的內容物廣泛, 分子範圍從小分子、多肽、蛋白質到遺傳物質<sup>[35]</sup>。對於慢性中樞神經系統疾病至關重要的是, 納米顆粒能將生物活性分子傳遞到難以到達的组织中, 下面簡要介紹幾種納米藥物載體。

**2.1 脂質納米顆粒** 脂質體是一種直徑為50~1 000 nm的球狀脂質雙分子層, 可作為生物活性化合物有應用前景的藥物遞送載體, 主要通過減少藥物單獨使用時的毒性作用<sup>[36]</sup>, 或增加藥物的循環時間和有效性來發揮作用。根據脂質體的組成和細胞內傳遞機制可分為以下幾種類型: 常規脂質體、長循環脂質體、裝飾脂質體(表面修飾的囊泡和免疫脂質體)和生物反應性脂質體(陽離子型脂質體、溫度敏感型、pH敏感型)<sup>[37]</sup>。有研究表明, 脂質體的親水性和疏水性部分可以包封水溶性和脂溶性藥物, 以此來增加生物利用度, 有助於藥物穿過血腦屏障, 這也使得脂質體作為納米載體被廣泛應用於治療腦部疾病<sup>[38]</sup>。Canovi等<sup>[39]</sup>研究了用抗A $\beta$ 單克隆抗體包被的納米脂質體的吸附親和力, 結果顯示A $\beta$ 單克隆抗體包被的脂質體附着在AD腦尸檢樣本中的A $\beta$ 斑塊上, 為使用這種脂質體作為潛在的疾病診斷和治療提供了證據。為了防止陽離子納米顆粒的細胞毒性, 使用聚乙二醇(PEG)-脂質體(陰離子)和靶向肽(陽離子)構建了陰離

子siRNA納米複合物, 通過使用這些納米複合物實現了針對BACE1的抑制, 從而延緩AD的發生與發展<sup>[40]</sup>。此外脂質納米顆粒也可以高效搭載其他藥物靶向進入腦內以緩解病情, Mourtas等<sup>[41]</sup>通過合成含有姜黃素衍生物和血腦屏障轉運介質的多功能脂質體, 對AD患者死后大腦樣本的解剖分析表明, 姜黃素衍生物脂質體和姜黃素衍生物抗TrF脂質體對AD患者死后大腦樣本中的淀粉樣沉淀物具有高度親和力。

**2.2 聚合物納米顆粒** 聚合物納米顆粒是將藥物包載於載體材料骨架內或者將藥物通過共價鏈接/吸附作用修飾在載體材料的表面形成的納米藥物遞送系統, 其設計目的是防止藥物在體內被降解和失活, 並提高藥物的生物利用度<sup>[42]</sup>。由於其穩定性較好、易于製備、可與小分子藥物結合, 還易于修飾配體, 能達到靶向遞送藥物的作用, 被廣泛用於實驗研究<sup>[43]</sup>。反義寡核苷酸可以封裝在葡萄糖安裝的聚合物納米顆粒中, 該聚合物納米顆粒可以與葡萄糖轉運蛋白-1偶聯<sup>[44]</sup>, 這些反義寡核苷酸靶向APP或其加工酶的信使RNA, 從而達到了降低毒性A $\beta$ 水平的目的。Yang等<sup>[45]</sup>構建了一種用於治療AD的多功能納米顆粒(Rapa@DAK/siRNA), 該納米顆粒以橙黃網孢盤菌凝集素和A $\beta$ 結合肽修飾的聚乙二醇化樹突聚賴氨酸為基礎, 通過鼻內給藥以實現 $\beta$ -前體蛋白切割酶-1的siRNA與雷帕霉素共同遞送到腦內, 這種聚合物納米顆粒經鼻內給藥后被證實可改善轉基因AD小鼠的認知能力。Gao等<sup>[46]</sup>的研究發現, 可以將聚乙二醇-神經酰胺納米膠束通過自噬誘導小鼠N2a細胞中的Tau蛋白降解, 這種聚合物納米膠束實驗證實了聚合物納米藥物在神經退行性疾病中的靶向治療可行性。

**2.3 金屬及金屬氧化物納米顆粒** 納米金屬制劑也被用於中樞神經系統藥物的靶向給藥研究。氧化鈾(CeO<sub>2</sub>)納米顆粒具有自由基清除、抗干擾和抗凋亡的活性, 鈾的各種價態(氧化還原狀態)均具有自由基清除活性, 可用於創造抗氧化微環境和促進腦細胞修復的作用<sup>[47]</sup>。有研究表明, 直徑小於5 nm的CeO<sub>2</sub>納米顆粒通過其超氧化物歧化酶模擬和過氧化氫酶模擬其活性, 通過氧原子的可逆結合和在其表面上的Ce<sup>3+</sup>(還原)和Ce<sup>4+</sup>(氧化)狀態之間的轉換, CeO<sub>2</sub>納米顆粒展現出了強

大的氧自由基清除能力<sup>[48]</sup>。而金纳米颗粒已经被探索作为一种潜在的抗 A $\beta$  治疗药物, Hou 等<sup>[49]</sup>设计和制备了直径为 3.3 nm 的 L- 和 D- 谷胱甘肽稳定的金纳米颗粒,这 2 种手性纳米颗粒都能抑制 APP 与 A $\beta$ 42 的聚集,并在静脉注射后穿过血脑屏障,且无明显毒性。与 L3.3 对映体相比, D3.3 对 APP 与 A $\beta$ 42 具有更大的结合亲和力和更高的脑生物分布,对 AD 模型小鼠的 A $\beta$ 42 纤维颤有更强的抑制作用,并更好地挽救行为损伤。这种小纳米颗粒与手性识别部分的结合为 AD 提供了一种潜在的治疗方法。

2.4 与 siRNA 纳米颗粒耦合的多级纳米载体 缺氧聚集的 A $\beta$  积累是 AD 的一个关键致病事件,它由 APP 通过 BACE1 和  $\gamma$ - 分泌酶的连续裂解产生。鉴于 BACE1 在 A $\beta$  生成过程中的关键作用,抑制其酶活性可以减少 A $\beta$  的产生,因此 BACE1 被视为是一个很好的治疗靶点。使用表达 siRNA 的慢病毒载体降低 BACE1 水平可减少 AD 小鼠中 A $\beta$  的产生以及改善神经变性和行为缺陷<sup>[50]</sup>。siRNA 通过特异性沉默 BACE1 对 AD 治疗有很大的前景。然而,由于血脑屏障的存在和缺乏有效的 siRNA 脑传递方法限制了这一治疗策略。Zhou 等<sup>[50]</sup>通过开发了一种糖基化的“三相互作用”稳定的聚合 siRNA 纳米药物 (Gal-NP@siRNA),在 APP/PS-1 转基因 AD 小鼠模型中靶向 BACE1。Gal-NP@siRNA 表现出优越的血液稳定性,可以通过血糖控制的葡萄糖转运体 -1 介导的转运有效地穿透血脑屏障,从而确保 siRNA 降低 BACE1 的表达并改变相对通路。值得注意的是,给予 Gal-NP@siBACE1 恢复了 AD 小鼠认知能力,且没有明显的不良反应。实验还发现 Gal-NP@siRNA 纳米药物具有较高的大脑积累作用。Gal-NP@siBACE1 降低了 BACE1 的表达,导致 A $\beta$  斑块水平降低,以及抑制磷酸化 tau 蛋白水平和受损髓鞘再生的额外好处<sup>[51]</sup>。这些积极的病理生理效应可能有助于恢复 Gal-NP@siBACE1 处理的转基因小鼠的认知能力。目前,许多 BACE1 的小分子抑制剂还处于临床前或临床研究的不同阶段。然而,有研究结果显示,抑制 BACE1 对突触功能和认知产生了不良影响<sup>[52]</sup>。

### 3 小结与展望

目前尚无有效根治或者延缓 AD 病情进展的

药物<sup>[53]</sup>。对于 AD 的致病机制有许多的观点及假说,对应的存在很多不同的治疗靶点。考虑到 AD 是多因素作用下而发生的一种难治性神经系统退行性疾病,基因治疗可以同时选择多个靶点,以抑制或增强的方式靶向不同 AD 假说所支持的关键蛋白质。因此,基因治疗 AD 是最具创新性和应用前景的新方法之一。关于 AD 新的基因靶点和药物靶点相结合的研究在逐年增加,结合最新纳米载体的研究,基于纳米技术的 AD 基因疗法在未来很可能实现突破性的研究进展,将会为 AD 患者带来更为有效的治疗效果,甚至改变 AD 患者的未来。

然而,在纳米技术被实际用作基因递送方法之前,仍有几个问题需要解决,例如转染效率低和潜在的毒性/耐受性问题、基因治疗是否会产生不良影响等<sup>[29]</sup>。关于毒性的问题,构建纳米载体的各种成分有可能会改变中枢神经系统的内环境和各种脑细胞的生理功能。此外,纳米载体在脑组织的代谢方式和转归目前尚不明确,由于 AD 的基因治疗可能需要多次重复给药,纳米载体在脑组织中的蓄积很可能会通过一些潜在机制引起神经元细胞的凋亡或坏死。为了解决这个问题,有必要更好地了解不同的细胞结构成分、细胞代谢途径和微环境,并构建具有靶向中枢神经系统递送药物特性的新型纳米结构<sup>[29]</sup>。当前生物相容性较好的仿生纳米材料成为了纳米药物研究的热点,且已取得了较为满意的研究结果,有希望在未来应用到临床治疗中。另外,可以通过优化纳米药物的给药剂量和持续治疗时间,以尽量减少纳米药物介导的不良影响。AD 的基因疗法需要将治疗基因或者治疗药物递送到脑病变部位的特定靶点,因此需要成熟稳定的药物递送平台,以尽量减少出现脱靶的可能。

AD 是一种多因素参与的疾病,目前 APP、PS-1、PS-2 和 ApoE 基因是已发现的与 AD 密切相关的 4 个主要基因<sup>[54]</sup>,单基因治疗可能无法获得满意的治疗效果,同时针对多靶点的治疗可能是治疗 AD 的关键。随着 AD 病理不断的完善以及基因学说和纳米药物的不断发展,正确的基因治疗靶点与合适的纳米药物递送平台相结合可能是治疗 AD 和其他神经退行性疾病的一个重大突破(图 1)。

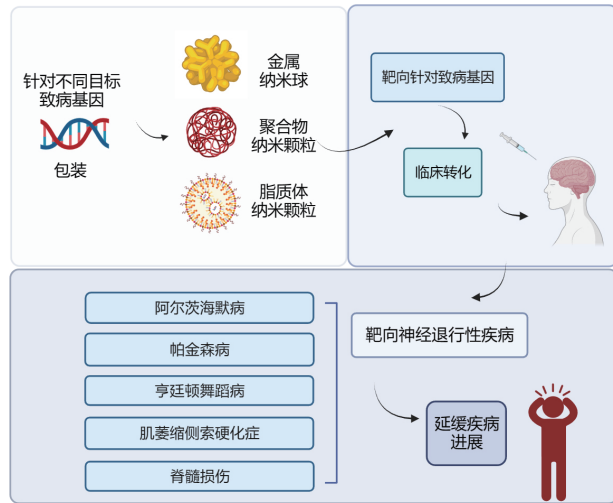


图1 纳米医学结合基因疗法治疗阿尔茨海默病等神经退行性疾病的未来展望

[参考文献]

[1] REITZ C. Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2015, 15(3): 339-348. DOI: 10.1586/14737159.2015.1002469.

[2] Prince M, Bryce R, Albanese E, et al The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis[J]. *Alzheimers Dement*, 2013, 9(1): 63-75. e2. DOI:10.1016/j.jalz.2012.11.007.

[3] SCHELTENS P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10284): 1577-1590. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)32205-4.

[4] FARKAS S, SZABÓ A, TÖRÖK B, et al. Ovariectomy-induced hormone deprivation aggravates Aβ1-42 deposition in the basolateral amygdala and cholinergic fiber loss in the cortex but not cognitive behavioral symptoms in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 985424. DOI: 10.3389/fendo.2022.985424.

[5] SINGER O, MARR R A, ROCKENSTEIN E, et al. Targeting BACE1 with siRNAs ameliorates Alzheimer disease neuropathology in a transgenic model[J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8(10): 1343-1349. DOI: 10.1038/nn1531.

[6] MARINO M, ZHOU L, RINCON M Y, et al. AAV-mediated delivery of an anti-BACE1 VHH alleviates pathology in an Alzheimer's disease model[J]. *EMBO Mol Med*, 2022, 14(4): e09824. DOI: 10.15252/emmm.201809824.

[7] GRICIUC A, FEDERICO A N, NATASAN J, et al. Gene therapy for Alzheimer's disease targeting CD33 reduces amyloid beta accumulation and neuroinflammation[J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(17): 2920-2935. DOI:

10.1093/hmg/ddaa179.

[8] DODART J C, MARR R A, KOISTINAHO M, et al. Gene delivery of human apolipoprotein E alters brain Abeta burden in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(4): 1211-1216. DOI: 10.1073/pnas.0409072102.

[9] NARISAWA-SAITO M, WAKABAYASHI K, TSUJI S, et al. Regional specificity of alterations in NGF, BDNF and NT-3 levels in Alzheimer's disease[J]. *Neuroreport*, 1996, 7(18): 2925-2928. DOI: 10.1097/00001756-199611250-00024.

[10] MUELLER-STEINER S, ZHOU Y, ARAI H, et al. Anti-amyloidogenic and neuroprotective functions of cathepsin B: implications for Alzheimer's disease[J]. *Neuron*, 2006, 51(6): 703-714. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.07.027.

[11] MALKKI H. Alzheimer disease: NGF gene therapy activates neurons in the AD patient brain[J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(10): 548. DOI: 10.1038/nrneurol.2015.170.

[12] FALCICCHIA C, PAOLONE G, EMERICH D F, et al. Seizure-suppressant and neuroprotective effects of encapsulated BDNF-producing cells in a rat model of temporal lobe epilepsy[J]. *Mol Ther Meth Clin Dev*, 2018, 9: 211-224. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.03.001.

[13] ROSENBERG J B, KAPLITT M G, DE B P, et al. AAVrh.10-mediated APOE2 central nervous system gene therapy for APOE4-associated Alzheimer's disease[J]. *Hum Gene Ther Clin Dev*, 2018, 29(1): 24-47. DOI: 10.1089/humc.2017.231.

[14] HONG C S, GOINS W F, GOSS J R, et al. Herpes simplex virus RNAi and neprilysin gene transfer vectors reduce accumulation of Alzheimer's disease-related amyloid-beta peptide *in vivo*[J]. *Gene Ther*, 2006, 13(14): 1068-1079. DOI: 10.1038/sj.gt.3302719.

[15] HOOK V, YOON M, MOSIER C, et al. Cathepsin B in neurodegeneration of Alzheimer's disease, traumatic brain injury, and related brain disorders[J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2020, 1868(8): 140428. DOI: 10.1016/j.bbapap.2020.140428.

[16] EL-AMOURI S S, ZHU H, YU J, et al. Neprilysin: an enzyme candidate to slow the progression of Alzheimer's disease[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(5): 1342-1354. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070620.

[17] MARR R A, ROCKENSTEIN E, MUKHERJEE A, et al. Neprilysin gene transfer reduces human amyloid pathology in transgenic mice[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(6): 1992-1996. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-06-01992.2003.

[18] MCKHANN G M, KNOPMAN D S, CHERTKOW H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's



- disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2011, 7: 263-269. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.
- [19] SHARMA S, VERMA S, KAPOOR M, et al. Alzheimer's disease like pathology induced six weeks after aggregated amyloid-beta injection in rats: increased oxidative stress and impaired long-term memory with anxiety-like behavior[J]. *Neurol Res*, 2016, 38(9): 838-850. DOI: 10.1080/01616412.2016.1209337.
- [20] 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): e1255555. DOI: 10.1126/science.1255555.
- [21] LIANG Z, LI X, LUO X, et al. The aptamer Ob2, a novel AChE inhibitor, restores cognitive deficits and alleviates amyloidogenesis in 5 $\times$ FAD transgenic mice[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 28: 114-123. DOI: 10.1016/j.omtn.2022.02.018.
- [22] HAMPEL H, VASSAR R, DE STROOPER B, et al. The  $\beta$ -secretase BACE1 in Alzheimer's disease[J]. *Biol Psychiatry*, 2021, 89(8): 745-756. DOI: 10.1016/j.biopsych.2020.02.001.
- [23] DAMIAN HOLSINGER R M, MCLEAN C A, BEYREUTHER K, et al. Increased expression of the amyloid precursor beta-secretase in Alzheimer's disease[J]. *Ann Neurol*, 2002, 51(6): 783-786. DOI: 10.1002/ana.10208.
- [24] HAMPEL H, MESULAM M M, CUELLO A C, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease[J]. *Brain*, 2018, 141(7): 1917-1933. DOI: 10.1093/brain/awy132.
- [25] KARAMI A, ERIKSDOTTER M, KADIR A, et al. CSF cholinergic index, a new biomeasure of treatment effect in patients with Alzheimer's disease[J]. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12: 239. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00239.
- [26] ZHOU L T, ZHANG J, TAN L, et al. Elevated levels of miR-144-3p induce cholinergic degeneration by impairing the maturation of NGF in Alzheimer's disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 667412. DOI: 10.3389/fcell.2021.667412.
- [27] SUN L, JIN Y, DONG L, et al. *Coccomyxa gloeobotrydiformis* improves learning and memory in intrinsic aging rats[J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(7): 825-832. DOI: 10.7150/ijbs.10861.
- [28] ERIKSDOTTER M, MITRA S. Gene and cell therapy for the nucleus basalis of Meynert with NGF in Alzheimer's disease[J]. *Handb Clin Neurol*, 2021, 179: 219-229. DOI: 10.1016/B978-0-12-819975-6.00012-1.
- [29] UNNISA A, GREIG N H, KAMAL M A. Nanotechnology-based gene therapy as a credible tool in the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(10): 2127-2133. DOI: 10.4103/1673-5374.369096.
- [30] TUSZYNSKI M H, THAL L, PAY M, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease[J]. *Nat Med*, 2005, 11(5): 551-555. DOI: 10.1038/nm1239.
- [31] STEPANICHEV M. Gene editing and Alzheimer's disease: is there light at the end of the tunnel?[J]. *Front Genome Ed*, 2020, 2: 4. DOI: 10.3389/fged.2020.00004.
- [32] PENG L, BESTARD-LORIGADOS I, SONG W. The synapse as a treatment avenue for Alzheimer's disease[J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(7): 2940-2949. DOI: 10.1038/s41380-022-01565-z.
- [33] BELOOR J, MAES N, ULLAH I, et al. Small interfering RNA-mediated control of virus replication in the CNS is therapeutic and enables natural immunity to West Nile virus[J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(4): 549-556.e3. DOI: 10.1016/j.chom.2018.03.001.
- [34] SIOUD M. RNA and CRISPR interferences: past, present, and future perspectives[J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2115: 1-22. DOI: 10.1007/978-1-0716-0290-4\_1.
- [35] EDIS Z, WANG J, WAQAS M K, et al. Nanocarriers-mediated drug delivery systems for anticancer agents: an overview and perspectives[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1313-1330. DOI: 10.2147/ijn.s289443.
- [36] DARAEI H, ETEMADI A, KOUHI M, et al. Application of liposomes in medicine and drug delivery[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2016, 44(1): 381-391. DOI: 10.3109/21691401.2014.953633.
- [37] KULKARNI J A, WITZIGMANN D, CHEN S, et al. Lipid nanoparticle technology for clinical translation of siRNA therapeutics[J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(9): 2435-2444. DOI: 10.1021/acs.accounts.9b00368.
- [38] NIU X, CHEN J, GAO J. Nanocarriers as a powerful vehicle to overcome blood-brain barrier in treating neurodegenerative diseases: focus on recent advances[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2019, 14(5): 480-496. DOI: 10.1016/j.ajps.2018.09.005.
- [39] CANOVI M, MARKOUTSA E, LAZAR A N, 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.
- [40] TAGALAKIS A D, LEE D H D, BIENEMANN A S, et al. Multifunctional, self-assembling anionic peptide-lipid nano complexes for targeted siRNA delivery[J].

- Biomaterials, 2014, 35(29): 8406-8415. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.06.003.
- [41] MOURTAS S, LAZAR A N, MARKOUTSA E, et al. Multifunctional nanoliposomes with curcumin-lipid derivative and brain targeting functionality with potential applications for Alzheimer disease[J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 80: 175-183. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.04.050.
- [42] VAN GIAU V, AN S S A, HULME J P. Mitochondrial therapeutic interventions in Alzheimer's disease[J]. *J Neurol Sci*, 2018, 395: 62-70. DOI: 10.1016/j.jns.2018.09.033.
- [43] WANG X, WU M, LI H, et al. Enhancing penetration ability of semiconducting polymer nanoparticles for sonodynamic therapy of large solid tumor[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(6): e2104125. DOI: 10.1002/advs.202104125.
- [44] MIN H S, KIM H J, NAITO M, et al. Systemic brain delivery of antisense oligonucleotides across the blood-brain barrier with a glucose-coated polymeric nanocarrier[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59(21): 8173-8180. DOI: 10.1002/anie.201914751.
- [45] YANG X, YANG W, XIA X, et al. Intranasal delivery of BACE1 siRNA and rapamycin by dual targets modified nanoparticles for Alzheimer's disease therapy[J]. *Small*, 2022, 18(30): e2203182. DOI: 10.1002/sml.202203182.
- [46] GAO J, CHEN X, MA T, et al. PEG-ceramide nanomicelles induce autophagy and degrade tau proteins in N2a cells[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 6779-6789. DOI: 10.2147/ijn.s258311.
- [47] WANG S, YAO Z, ZHANG X, et al. Energy-supporting enzyme-mimic nanoscaffold facilitates tendon regeneration based on a mitochondrial protection and microenvironment remodeling strategy[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(31): e2202542. DOI: 10.1002/advs.202202542.
- [48] SIPOSOVA K, HUNTOSOVA V, GARCAROVA I, et al. Dual-functional antioxidant and antiamyloid cerium oxide nanoparticles fabricated by controlled synthesis in water-alcohol solutions[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(5): 942. DOI: 10.3390/biomedicines10050942.
- [49] HOU K, ZHAO J, WANG H, et al. Chiral gold nanoparticles enantioselectively rescue memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4790. DOI: 10.1038/s41467-020-18525-2.
- [50] ZHOU Y, ZHU F, LIU Y, et al. Blood-brain barrier-penetrating siRNA nanomedicine for Alzheimer's disease therapy[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(41): eabc7031. DOI: 10.1126/sciadv.abc7031.
- [51] GU X, SONG Q, ZHANG Q, et al. Clearance of two organic nanoparticles from the brain via the paravascular pathway[J]. *J Control Release*, 2020, 322: 31-41. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.03.009.
- [52] FILSER S, OVSEPIAN S V, MASANA M, et al. Pharmacological inhibition of BACE1 impairs synaptic plasticity and cognitive functions[J]. *Biol Psychiatry*, 2015, 77(8): 729-739. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.10.013.
- [53] 程文彬,陈晓哈,孙文静,等.阿尔茨海默病精准诊断和药物研发的焦点与挑战[J]. *海军军医大学学报*, 2023, 44(9): 1013-1025. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230210.
- CHENG W, CHEN X, SUN W, et al. Precision diagnosis and drug development for Alzheimer's disease: focus and challenges[J]. *Acad J Naval Med Univ*, 2023, 44(9): 1013-1025. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230210.
- [54] LALWANI A K, KRISHNAN K, BAGABIR S A, et al. Network theoretical approach to explore factors affecting signal propagation and stability in dementia's protein-protein interaction network[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(3): 451. DOI: 10.3390/biom12030451.

[本文编辑] 魏学丽