文章编号:1000-5854(2026)05-0490-08

纳米抗体在阿尔茨海默病诊断与治疗中的研究进展及应用

常 淼, 刘喜富, 陈 静

(河北师范大学 生命科学学院,河北 石家庄 050024)

摘 要:阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是一种以进行性认知功能障碍和行为障碍为特征的神经退行性疾病,其病理特征包括 β-淀粉样蛋白(amyloid-β protein,Aβ)斑块沉积、Tau 蛋白过度磷酸化形成神经纤维缠结(neurofibrillary tangles,NFTs)以及神经炎症.科研人员已研发多种疫苗、单抗和小分子抑制剂等药物,但现有治疗药物仅能缓解症状,无法遏制疾病进展.传统单克隆抗体(monoclonal antibody,mAb)如 Aducanumab、Lecanemab、Donanemab 等虽进入临床,但存在血脑屏障(blood brain barrier,BBB)穿透效率低、免疫原性强、生产成本高及长期疗效不佳等局限,亟需开发新型诊断与治疗策略.纳米抗体(nanobodies,Nbs)因其体积小、穿透性强、稳定性高等特点,在 AD 诊断与治疗中展现出巨大潜力,近年来被广泛应用于 AD 的诊断和治疗研究中.本文综述了纳米抗体的结构特点以及纳米抗体在靶向 Aβ、Tau 蛋白和神经炎症中的应用研究进展,并探讨了其面临的挑战和未来发展方向.

关键词:阿尔茨海默病; β-淀粉样蛋白; Tau 蛋白; 神经炎症; 纳米抗体

中图分类号:Q 511 **文献标志码**:A **DOI**:10.13763/j.cnki.jhebnu.nse.202604012

Research progress and applications of nanobodies in the diagnosis and therapy of Alzheimer's disease

Chang Miao, Liu Xifu, Chen Jing

(College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang Hebei 050024, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by progressive cognitive and behavioral impairments. Its pathological features include the deposition of amyloid-β (Aβ) plaques, hyperphosphorylation of Tau protein leading to neurofibrillary tangles (NFTs), and neuroinflammation. Researchers have developed various vaccines, monoclonal antibodies (mAbs), and small molecule inhibitors, but current treatments can only alleviate symptoms without halting disease progression. Traditional mAbs such as Aducanumab, Lecanemab, and Donanemab, although in clinical use, have limitations including low blood-brain barrier (BBB) penetration, strong immunogenicity, high production costs, and insufficient long-term efficacy. There is an urgent need to develop novel diagnostic and therapeutic strategies. Nanobodies (Nbs), due to their small size, strong penetration, and high stability, have shown great potential in AD diagnosis and treatment and have been widely applied in AD research in recent years. This article reviews the struc-

收稿日期:2026-03-30; **修回日期**:2026-04-22

基金项目:河北省自然科学基金(C202305003); 河北师范大学技术创新基金(L2025K03)

作者简介:常 淼(2004-),女,河北保定人,研究方向为纳米抗体筛选及功能验证.

通信作者:刘喜富(1964-),男,教授,博士生导师,研究方向为肿瘤新药研发.E-mail:xfliu@hebtu.edu.cn

陈 静(1990-),女,讲师,硕士生导师,研究方向为纳米抗体筛选及功能验证.E-mail:jingchen@hebtu.edu.cn

tural characteristics of nanobodies and the progress in their application in targeting Aβ, Tau protein, and neuroinflammation, and discusses the challenges and future development directions.

Key words: Alzheimer's disease; amyloid-β protein; Tau protein; neuroinflammation; nanobody

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种无法逆转的神经退行性疾病,主要表现为认知功能障碍、记忆力减退、语言障碍、视觉知觉能力下降和空间感知能力受损[1].截止目前,全球 AD 患者超过5 000万,预计到 2050 年将增至1.15亿,其中 65 岁以上患者将达到1 380万人[2].在人口老龄化的情况下,AD 将成为本世纪医学面临的最大挑战之一.当前,中国 AD 患者已超过1 000万人,是新发病例全球增速最快的国家之一.目前,已有多种治疗策略可用于缓解症状、延缓疾病进展以及提升患者的生活质量,但 AD 尚无法彻底治愈,缺乏有效的治疗手段.因此,迫切需要早期检测和有效的治疗干预来应对这一日益严峻的挑战.AD 的发病机制尚未完全阐明,关于 AD 发病机制的假说很多,其中 β-淀粉样蛋白(amyloid-β protein, Aβ)沉积假说、Tau 蛋白磷酸化假说、神经炎症假说等得到了广泛认可.纳米抗体作为一种新型抗体形式,是从骆驼科或鲨鱼类动物中分离出的抗体片段,具有体积小、稳定性高、穿透力强、免疫原性低和生产成本低等优点,为 AD 的诊断与治疗提供了新策略.

1 纳米抗体

1993 年,Hamers-Casterman 等[3]在骆驼血清中首次发现了纳米抗体,是源自骆驼科和鲨鱼类动物单域抗体的重链可变区(variable domain of the heavy-chain of single-domain antibody, VHH),也是目前已知的可结合抗原的最小功能性抗体片段.

如图 1 所示,传统抗体的分子量约 150 kDa,是由 2 条重链与 2 条轻链通过二硫键组装而成的四链结构.骆驼科动物体内天然存在的重链抗体分子量约 90 kDa,其结构仅有重链的可变区 VHH 与恒定区 CH2、CH3.此外,由传统抗体衍生的轻链抗体是重链可变区 VH 与轻链可变区 VL 连接而成的重组抗体片段,分子量约为 30 kDa.而 VHH 的分子量通常约为 15 kDa,仅为传统抗体分子量的 1/10,为轻链抗体分子量的 1/2,这一核心特征赋予了其区别于传统抗体的独特优势.

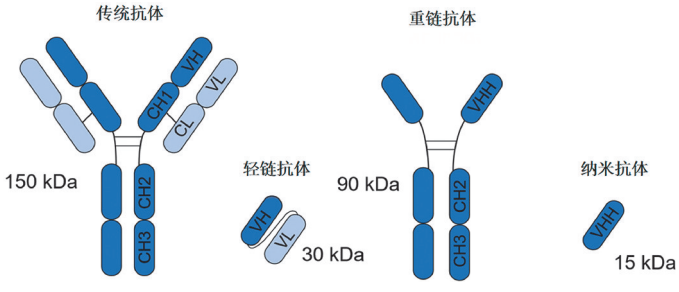


图 1 传统抗体、重链抗体、轻链抗体与纳米抗体结构示意图

Fig.1 Structure diagram of conventional antibody, heavy chain antibody, light chain antibody and nanobody

相较于传统单克隆抗体,VHH 凭借其极小的分子尺寸,能够穿透常规抗体无法抵达的组织间隙,深入隐蔽的抗原活性位点,实现特异性结合.同时,VHH 对靶抗原表现出高结合亲和力、高选择性、高稳定性、低免疫原性等特点,显著降低了临床应用中的副作用[4].在生产与工程化层面,VHH 可以在细菌和酵母细胞中高效表达,大幅降低了生产成本与工艺复杂度,且易于基因工程改造,可以灵活构建多价抗体、双特异性抗体、多特异性抗体,或与显影剂、药物分子、靶向肽等融合,拓展其在疾病诊疗中的应用场景.因此,VHH 被广泛应用于疾病靶向治疗、分子诊断以及精准药物递送等研究领域[5].

纳米抗体在阿尔茨海默病的诊断和治疗中展现出巨大潜力,与传统单克隆抗体的特性对比见表 1.

2 靶向 AD 的纳米抗体研究进展

关于 AD 发病机制的假说很多,其中 Aβ 沉积假说、Tau 蛋白磷酸化假说、神经炎症假说是目前被广泛认可的 3 大假说.纳米抗体凭借小尺寸、高穿透性与高特异性等优势,可精准作用于 AD 的 3 大核心病理环节,如图 2 所示:1) Aβ 沉积假说,靶向 Aβ 的纳米抗体可特异性识别并结合可溶性 β-淀粉样蛋白寡聚体(soluble Aβ amyloid oligomers, sAβOs)与淀粉样斑块:一方面可以抑制 Aβ 的错误折叠与寡聚化进程,在病变的起始环节阻断神经毒性;另一方面能够促进 Aβ 斑块的清除,直接解聚已沉积的斑块,进而中和 Aβ 寡聚体的神经毒性,保护神经元免受损伤.2) Tau 蛋白磷酸化假说,针对 Tau 蛋白的纳米抗体可精准靶向 Tau 蛋白聚集的核心序列,抑制病理性 Tau 寡聚体与原纤维的组装,同时阻断 Tau 聚集体在神经元之间的传播扩

散.部分纳米抗体还可介导泛素化降解通路,选择性降解不溶性 Tau 聚集体,缓解神经元内纤维缠结的形成.3) 神经炎症假说,Aβ 和 Tau 蛋白的错误折叠和聚集会引起神经炎症,神经炎症又进一步促进 Aβ 产生和 Tau 蛋白磷酸化.在神经炎症调控方面,靶向胶质细胞活化标志物胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein,GFAP)的纳米抗体可特异性标记反应性星形胶质细胞,用于神经炎症的活体成像与动态监测,为 AD 的体内成像提供了新思路.

表 1　纳米抗体与传统单克隆抗体在阿尔茨海默病诊疗中的应用特性对比

Tab.1　Comparison of application characteristics between nanobodies and traditional monoclonal antibodies in the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease

特性	传统单克隆抗体	纳米抗体	对阿尔茨海默病诊疗的意义
分子尺寸	约 150 kDa	约 15 kDa	尺寸小是纳米抗体最核心的优势,这为其后续的高穿透性、高亲和力、低免疫原性等特性奠定基础.
血脑屏障穿透性	弱	强	纳米抗体因其尺寸小,更容易通过被动扩散或受体介导的转胞吞作用穿过血脑屏障,是治疗中枢神经系统疾病的关键.
组织穿透深度	受限	深	在如脑组织的实体组织中,纳米抗体能更有效地扩散,有助于抵达病灶深处.
免疫原性	较高	低	人源化纳米抗体免疫原性风险更低,可降低治疗相关副作用,更适用于长期给药.
生产成本与工艺	高(通常需哺乳动物细胞表达)	低(可在大肠杆菌、酵母等微生物中高效表达)	纳米抗体生产成本低,稳定性高,更易于大规模生产与储存.
工程化灵活性	中等	高	易于进行基因改造,可灵活构建多价体以增强亲和力,或构建双特异性抗体、多特异性抗体同时靶向 Aβ、Tau 等多靶点,且可轻松与显影剂、药物、脑靶向肽等融合.
结合表位	通常靶向传统表位	可结合隐蔽/特殊表位	能够识别传统抗体无法接近的、具有构象特异性的靶点(如 Aβ 或 Tau 的特定寡聚体形态),实现更精准的干预.
诊断应用潜力	受限(穿透性差、本底高)	潜力巨大	尺寸小与快速清除特性,使其更适合作为分子成像探针,实现高信噪比的活体、实时诊断.

在纳米抗体的递送优化方面,为了突破血脑屏障的限制,研究人员通过基因工程将纳米抗体与转铁蛋白受体(transferrin receptor,TfR)、载脂蛋白 E(apolipoprotein E,ApoE)脑穿梭肽等脑靶向肽融合,借助受体介导的转胞吞作用显著提升纳米抗体穿透血脑屏障的效率.此外,将纳米抗体与细胞易位肽(cell translocation peptide,CTP)PepH3 融合,也可以使纳米抗体高效易位血脑屏障,进而有效递送至脑内病灶区域,增强其在 AD 诊断成像与靶向治疗中的应用效果.

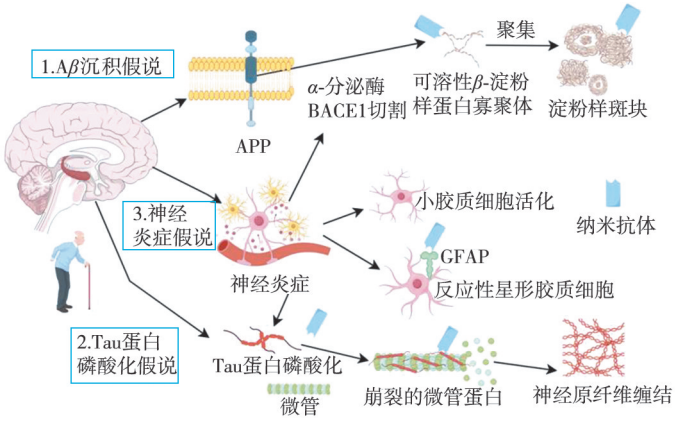


图 2　纳米抗体在阿尔茨海默病治疗中的作用机制示意图

Fig.2　Schematic diagram of the mechanism of action of nanobodies in the treatment of Alzheimer's disease

图 2 概括了纳米抗体针对 AD 核心病理(Aβ 沉积、Tau 蛋白异常聚集与传播、神经炎症)的作用机制.主要包括:1) 靶向 Aβ,抑制寡聚体形成、解聚或清除斑块、中和神经毒性;2) 靶向 Tau,抑制病理性聚集、阻断细胞间传播、促进聚集体降解;3) 靶向神经炎症,标记活化的胶质细胞用于成像监测.

2.1　靶向 Aβ 的纳米抗体研究进展

Aβ 的沉积被认为是 AD 主要病理机制,降低大脑中 Aβ 水平是一种可行的治疗方法[6].使用抗体片段或纳米抗体选择性靶向 Aβ 可显著延缓淀粉样蛋白在小鼠大脑中的沉积[7].Aβ 有 3 种形式,分别是可溶性的单

体、寡聚体和不可溶纤维[8].目前大多数学者认为 Aβ 的神经毒性主要由其寡聚体形式表现,sAβOs 在淀粉样蛋白斑块形成之前就已提前积累.sAβOs 会诱导 AD 中的毒性和记忆障碍,因此分离能够选择性靶向特定 Aβ 寡聚形态并阻断神经毒性的纳米抗体具有作为 AD 早期诊断和治疗的潜在价值.

2.1.1 抗 Aβ 的纳米抗体在 AD 诊断中的作用

由于血脑屏障的存在,使用成像探针检测脑内靶标具有挑战性.纳米抗体由于体积小、相对分子量低,能够以亚纳摩尔亲和力特异性结合靶表位.因此,它们可以在组织中更快、更深地扩散,并且比传统抗体片段具有更好的体内生物分布特征.根据其结合特性,纳米抗体可用于与细胞内靶标相互作用,将其可视化,可应用于 AD 的早期诊断中.

2012 年,Nabuurs 等[9]使用二乙烯三胺五乙酸(diethylenetriaminepentaacetic acid,DTPA)将锝[99mTc]螯合放射性标记于 2 种抗 Aβ 纳米抗体 ni3A 和 pa2H.这 2 种荧光标记的纳米抗体均能特异性结合 Aβ,其中 pa2H 在注射 24 h 及更长时间后仍可被检测到,证实了纳米抗体在体内检测 Aβ 沉积的高选择性与良好稳定性,为开发特异性诊断试剂奠定基础.Li 等[10]设计了一种特异性抗 Aβ 纳米抗体 R3VQ,并将其与一个 AF488 荧光分子偶联形成 R3VQ-S-AF488.该偶联物能够高效检测细胞内外和小鼠模型体内的淀粉样蛋白斑块.Haynes 等[11]通过 sAβOs 免疫羊驼获得了一种新型抗 sAβOs 纳米抗体 E3.体外测定和体内研究表明,经荧光素标记后,E3 可穿过血脑屏障,精准识别脑内 sAβOs 和 β-淀粉样蛋白斑块.结果表明,sAβOs 纳米抗体可以作为诊断剂,在阿尔茨海默病中具有应用潜力.

在递送系统研究中,转铁蛋白受体介导的转胞吞作用是脑内递送抗体及其片段的有效策略,可将大蛋白构建体转运到大脑中[12].Su 等[13]通过用小鼠转铁蛋白受体(mouse transferrin receptor,mTfR)免疫美洲驼制备抗 mTfR 纳米抗体库,经免疫淘选和候选药物的体外表征产生抗 mTfR 纳米抗体,并将其定点诱变产生变体.抗 mTfR 纳米抗体 M1 及其变体与 mTfR 的结合亲和力为(1～1.52) nmol/L.将 M1 与 Aβ 纳米抗体二聚体融合并用荧光染料标记,该融合构建体仍能以 22 nmol/L 的低浓度同时结合 mTfR 与 Aβ 斑块,成功应用于 AD 模型小鼠的体内靶向评估,为跨血脑屏障递送诊断性纳米抗体提供了新范式.

综上,在 AD 诊断研究中,如 ni3A、pa2H、R3VQ、E3 等多种抗 Aβ 纳米抗体,均证实了其在体内检测 Aβ 沉积的高特异性与良好的稳定性,且将抗 mTfR 纳米抗体 M1 与 Aβ 纳米抗体二聚体融合的构建体,成功实现跨血脑屏障递送,为 AD 诊断性纳米抗体的应用提供了新思路.

2.1.2 靶向 Aβ 的纳米抗体在 AD 治疗中的作用

在 AD 病理进程中,淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein,APP)的加工产物以含有 40 个氨基酸的 Aβ 1-40 和含有 42 个氨基酸的 Aβ 1-42 为主,这 2 种 Aβ 多肽常被作为病理标志物去研究[14].研究表明,使用 Aβ 1-40 和 Aβ 1-42 进行主动免疫产生的 Aβ 噬菌斑特异性抗体,可降低 APP 转基因小鼠的神经毒性并逆转记忆缺陷[15].Lafaye 等[16]通过用 Aβ 1-42 免疫羊驼获得 3 种 Aβ 特异性纳米抗体,其中 2 种能够选择性识别神经元内 Aβ 寡聚体,另一种 V31-1 可减轻 Aβ 诱导的神经毒性并抑制原纤维形成.Paraschiv 等[17]通过用 Aβ 1-40 免疫美洲驼筛选出了 2 种 Aβ 特异性纳米抗体 Nb3 和 Nb9.并通过蛋白水解切除亲和质谱法鉴定 2 种 Aβ 特异性纳米抗体的识别表位为 Aβ 1-40 和 Aβ 17-28,且与这 2 种表位之间的结合亲和力分别为约 150 nmol/L 和 700 nmol/L.Zameer 等[18]利用生物淘选技术分离出一种抗 Aβ 寡聚体纳米抗体 A4,它可以抑制 Aβ 聚集和神经毒性,降低 Aβ 寡聚体对人神经母细胞瘤细胞的损伤.Kasturirangan 等[19]分离出了另一种抗 Aβ 寡聚物纳米抗体 E1,与先前 Zameer 等[18]报道的 A4 相比,E1 与早期的小分子量寡聚形式 Aβ 结合,可稳定低分子量 Aβ 寡聚体结构,且不与单体、较大的寡聚体或纤维形式反应.因此 E1 有望作为 AD 早期中和 Aβ 诱导毒性的治疗剂.

血脑屏障穿透性是抗体类疗法的主要限制,CTP 的 PepH3 可以有效易位血脑屏障(blood-brain barrier,BBB)[20].Ahmad 等[21]将细胞易位肽 PepH3 与治疗性抗 Aβ 1-42 纳米抗体偶联,构建 VHH-PepH3 融合蛋白.ELISA 和 SPR 检测结果显示,VHH-PepH3 与 Aβ 1-42 的结合亲和力为 14.2 nmol/L.VHH-PepH3 不仅能有效易位 BBB,还可以干扰 Aβ 1-42 的聚集,保护 bEnd.3 细胞免受 Aβ 1-42 诱导的毒性损伤.

综上,靶向 Aβ 纳米抗体可以抑制 Aβ 聚集,稳定低分子量寡聚体并减轻神经毒性.同时,利用细胞易位

肽 PepH3 与抗 Aβ 纳米抗体偶联，不仅解决了血脑屏障穿透难题，还能有效干扰 Aβ 聚集及保护神经细胞，展现出良好的治疗潜力.

2.2 靶向 Tau 蛋白的纳米抗体研究进展

在 AD 患者中，Aβ 聚集成淀粉样蛋白斑块后，过度磷酸化的 Tau 蛋白水平升高[22].高磷酸化的 Tau 在细胞内错误折叠和聚集，形成可溶性寡聚体和更大的不溶性原纤维，进而形成神经原纤维缠结[23].大量研究表明，可溶性 Tau 寡聚体可在体内传播并诱导毒性作用，此时 Tau 毒性最强[24].与 β-淀粉样蛋白病理学相比，Tau 病理学与 AD 的认知能力下降和临床症状更密切相关[25].鉴于 Tau 病理与 AD 临床症状之间的相关性，Tau 蛋白也是 AD 研究中的一个重要靶点.

2.2.1 靶向 Tau 蛋白的纳米抗体在 AD 诊断中的作用

靶向 Tau 蛋白的纳米抗体凭借其高特异性与亲和力，为 AD 诊断带来了新方向.目前，科研人员通过多种技术筛选出的不同 Tau 纳米抗体，在 AD 诊断领域展现出独特的优势与应用潜力.

Li 等[10]通过使用富含磷酸化 Tau 蛋白的 AD 脑提取物和磷酸化 Tau 蛋白 C 端肽免疫羊驼，经噬菌体展示技术筛选出特异性识别磷酸化 Tau 的纳米抗体 A2.将其与一个 AF488 荧光分子偶联后形成的纳米抗体 A2-S-AF488 成像探针，能够精准识别 Tau 转基因小鼠脑中的磷酸化 Tau 和神经原纤维缠结样结构，为活体检测 AD 患者脑内 Tau 病理变化提供了可视化工具.Dupré 等[26]通过筛选初始合成文库，获得识别 Tau 蛋白 C 末端结构域中表位的 VHH 家族，其中 F8-2 与 Tau 结合的平衡常数 KD 处于微摩尔范围，经酵母双杂交优化后，可用于脑组织中 Tau 的检测，为免疫疗法中的 Tau 检测奠定基础.Mcarthur 等[27]从纳米抗体库中筛选出的 MT3.1 能与 Tau 单体、寡聚体和原纤维结合，其结合表位接近或位于 Tau 的原纤维核心，其中，2 个结合表位包含可驱动 Tau 聚集和接种的关键氨基酸序列 VQIXXK.经开发表征的二价 MT3.1-Fc 与 Tau 病理小鼠脑组织裂解物结合能力更强，在检测 Tau 病理产物上具有更高灵敏度.Mcarthur 等[28]通过筛选合成的酵母表面展示纳米抗体库，筛选出的 OT2.4 和 OT2.6 纳米抗体，对 Tau 寡聚体具有高度构象特异性，可与 AD 患者脑样本中的 Tau 寡聚体相互作用，在 AD 早期诊断方面极具潜力.

2.2.2 靶向 Tau 的纳米抗体在 AD 治疗中的作用

Tau 蛋白由 N 末端结构域、富含脯氨酸的结构域、由 4 个部分重复区域(R1-R4)构成的微管结合结构域(microtubule-binding domain，MTBD)，以及 C 末端结构域的 4 个结构域组成.其中，MTBD 的 R2 和 R3 重复区起始处的 VQIVYK 六肽(paired helical filament 6，PHF6)是 Tau 聚集的核心位点，是抗 Tau 纳米抗体研究的重要靶点.

Tau 蛋白的异常聚集与病理扩散是 AD 的关键致病因素，科研人员针对 Tau 蛋白的异常聚集与传播开展了多维度研究.Danis 等[29]从合成的人源化纳米抗体噬菌体展示文库中筛选出抗 Tau 的纳米抗体，此抗体能够结合构成 Tau 原纤维核心的 Tau 微管结合结构域.酵母双杂交方法可优化该纳米抗体获得 Z70.Z70 可靶向 Tau PHF6 序列，抑制体外及细胞模型中的 Tau 原纤维组装，并在小鼠模型中减轻病理性 Tau 的积累.Danis 等[30]筛选并表征了 3 种抑制 Tau 摄取的纳米抗体：A31、H3-2 和 Z70mut1.低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(low-density lipoprotein receptor-related protein 1，LRP1)是介导 Tau 神经元摄取的主要受体[31]，这 3 种纳米抗体可通过与膜蛋白 LRP1 竞争 Tau 蛋白微管结合结构域的结合位点来阻断 Tau 被神经元摄取，其中，H3-2 以独特二聚体模式结合 C 端表位，能同时抑制单体与原纤维 Tau 的内化.Benn 等[32]通过将 E3 泛素连接酶 TRIM21 的 RING 结构域与靶标特异性纳米抗体融合，生成了可在核细胞质中表达的 RING 纳米抗体(R-Nb)降解剂.其中，E3 泛素连接酶 TRIM21 的 RING 结构域发生分子间二聚化，进而激活其泛素连接酶活性，介导抗体结合靶标复合物的泛素化降解[33].R-Nb 构建体可以抑制 Tau 聚集并选择性降解不溶性 Tau 聚集体.Abskharon 等[34]将 3 个 Tau 原纤维帽状淀粉样蛋白抑制剂序列 VDW、W3 和 WIW 连接到骆驼重链抗体支架上，设计了一组 Tau 加帽纳米抗体抑制剂，在空间上干扰原纤维的延长，阻断了重组 Tau 寡聚体的组装.同时，将靶向胰岛素样生长因子-1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor，IGFR1)纳米抗体与 Tau 加帽纳米抗体抑制剂连接，设计了一种双特异性纳米抗体，进一步增强血脑屏障穿透性，提升 Tau 加帽抑制剂的脑内递送效率.

综上，靶向 Tau 蛋白的纳米抗体可以抑制 Tau 聚集、抑制原纤维组装、降解不溶性聚集体、阻断 Tau 被

神经元摄取等，在 AD 治疗中展现多维度应用潜力.

2.3 靶向神经炎症标志物的纳米抗体的研究进展

AD 的主要组织病理学标志是细胞外 β-淀粉样蛋白斑块和细胞内神经原纤维 Tau 缠结.这些蛋白质的错误折叠和聚集会诱发神经胶质细胞的炎症反应.早期这种反应可能有助于清除大脑中的蛋白质碎片，但慢性神经炎症可能会加速疾病进展并加重病情[35].研究发现，在 AD 患者大脑中错误折叠的蛋白质附近发现了活化的小胶质细胞和反应性星形胶质细胞[36]，并且胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein，GFAP)阳性星形胶质细胞和活化的小胶质细胞的数量与 Tau 缠结相关[37]，这表明神经炎症与 AD 发病机制存在密切联系.

GFAP 是反应性星形胶质细胞的经典标志物，其表达上调是神经炎症的关键特征.Li 等[38]在 2017 年从羊驼中获得的 GFAP 特异性纳米抗体 VHH-E9，高剂量给药时 VHH-E9 可穿过 BBB，并且在体内显示出星形胶质细胞膜的穿透性.而后 Meier 等[39]将 VHH-E9 作为 GFAP 成像放射性配体，并将其与 TfR 抗体 8D3 的单链可变片段(single-chain variable fragment，scFv)融合，通过 TfR 介导的 BBB 转胞吞作用增强 BBB 穿透.静脉给药 120 min 后 VHH-E9-scFv8D 3 使脑输送增加了约 2 至 3 倍，体外放射自显影显示，VHH-E9-scFv8D 3 在转基因小鼠 ArcSwe 中的结合比在野生型中更强.但由于 GFAP 定位于细胞内，限制了 VHH-E9-scFv8D 3 和 GFAP 之间的相互作用，导致 VHH-E9-scFv8D 3 在脑内的浓度不足，难以满足体内成像需求；脑穿梭肽载脂蛋白 E(apolipoprotein E，ApoE)可通过与 LRP1 结合，诱导受体介导的转运蛋白渗透到大脑中[40].Morito 等[41]将 VHH-E9 与脑穿梭肽 ApoE 融合设计了 E9-GS-ApoE(EGA)和 E9-EAK-ApoE(EEA)，并使用^{18}F 对 VHH-E9、EGA 和 EEA 进行放射性标记.这些放射性标记的融合蛋白能够与大鼠脑切片中的 GFAP 结合以区分神经炎症.然而^{18}F-EEA 在静脉给药后 180 min 内仍无法明确区分大鼠体内模型的神经炎症病变.

综上，靶向神经炎症标志物 GFAP 的纳米抗体为 AD 的体内成像提供了新思路，但 GFAP 的亚细胞定位和递送效率仍是关键瓶颈.未来需结合分子设计、递送系统优化及多模态成像技术，开发高特异性、高穿透性的放射配体，以推动 AD 病理机制研究和临床转化.

3 结论与展望

阿尔茨海默症的病理机制复杂，目前仍缺乏根治手段.纳米抗体凭借 15 kDa 的小分子量、高组织穿透性及低免疫原性等优势，可精准靶向 Aβ、Tau 蛋白及神经炎症标志物，在 AD 的靶向诊断和干预治疗中展现显著潜力.放射性或荧光标记的纳米抗体则实现了 Aβ 沉积的体内成像与 NFTs 的活体检测，为 AD 早期诊断提供了可视化工具.靶向神经炎症标志物 GFAP 的纳米抗体通过融合转铁蛋白受体抗体增强 BBB 穿透，虽受限于细胞内定位，但为 AD 炎症成像开辟了新路径.

纳米抗体在 AD 研究中虽展现出巨大潜力，但从当前研究进展迈向临床应用，仍面临诸多关键挑战.未来的研究可从以下 3 个关键方向深入推进：1) 在分子设计优化层面，借助基因工程技术，进一步提升纳米抗体与血脑屏障转运受体的结合效率，同时，构建多价或双特异性纳米抗体，实现对 Aβ 与 Tau 蛋白的联合靶向；2) 在递送系统创新方面，融合病毒载体、纳米颗粒、外泌体等递送平台，着力解决药物在脑内的生物分布不均与药代动力学难题；3) 在临床转化推进领域，需开展更多动物模型的长期研究，并积极推进临床试验，全面验证纳米抗体在阿尔茨海默病不同病程阶段的诊断价值与治疗潜力.此外，还应探索纳米抗体与现有药物的联合应用模式，挖掘协同治疗效果.

纳米抗体在 AD 研究中已展现从基础到临床转化的巨大潜力，随着技术突破与机制研究的深入，有望成为攻克 AD 的重要工具.

参考文献：

[1] Xia Z D，Ma R X，Wen J F，et al.Pathogenesis，animal models，and drug discovery of Alzheimer′s disease[J].Journal of Alzheimer′s Disease，2023，94(4)：1265-1301.DOI：10.3233/jad-230326.

[2] Ji Q Q，Chen J Q，Li Y F，et al.Incidence and prevalence of Alzheimer′s disease in China：a systematic review and meta-analysis[J].European Journal of Epidemiology，2024，39(7)：701-714.DOI：10.1007/s10654-024-01144-2.

[3] Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains[J]. Nature, 1993, 363(6428): 446-448. DOI: 10.1038/363446a0.

[4] Harmsen M M, De Haard H J. Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 77(1): 13-22. DOI: 10.1007/s00253-007-1142-2.

[5] Sundberg E J, Mariuzza R A. Molecular recognition in antibody-antigen complexes[M]. Amsterdam: Elsevier, 2002: 119-160. DOI: 10.1016/s0065-3233(02)61004-6.

[6] Kasturirangan S, Boddapati S, Sierks M R. Engineered proteolytic nanobodies reduce Aβ burden and ameliorate Aβ-induced cytotoxicity[J]. Biochemistry, 2010, 49(21): 4501-4508.

[7] Levites Y, Das P, Price R W, et al. Anti-$Abeta_{42}$- and anti-$Abeta_{40}$-specific mAbs attenuate amyloid deposition in an Alzheimer disease mouse model[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2006, 116(1): 193-201. DOI: 10.1172/JCI25410.

[8] Pinheiro L, Faustino C. Therapeutic strategies targeting amyloid-β in Alzheimer's disease[J]. Current Alzheimer Research, 2019, 16(5): 418-452. DOI: 10.2174/1567205016666190321163438.

[9] Nabuurs R J A, Rutgers K S, Welling M M, et al. In vivo detection of amyloid-β deposits using heavy chain antibody fragments in a transgenic mouse model for Alzheimer's disease[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38284. DOI: 10.1371/journal.pone.0038284.

[10] Li T F, Vandesquille M, Koukouli F, et al. Camelid single-domain antibodies: a versatile tool for in vivo imaging of extracellular and intracellular brain targets[J]. Journal of Controlled Release, 2016, 243: 1-10. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.09.019.

[11] Haynes J R, Whitmore C A, Behof W J, et al. Targeting soluble amyloid-beta oligomers with a novel nanobody[J]. Scientific Reports, 2024, 14: 16086. DOI: 10.1038/s41598-024-66970-6.

[12] Wouters Y, Jaspers T, Rué L, et al. VHHs as tools for therapeutic protein delivery to the central nervous system[J]. Fluids and Barriers of the CNS, 2022, 19(1): 79. DOI: 10.1186/s12987-022-00374-4.

[13] Su S R, Esparza T J, Brody D L. Selection of single domain anti-transferrin receptor antibodies for blood-brain barrier transcytosis using a neurotensin based assay and histological assessment of target engagement in a mouse model of Alzheimer's related amyloid-beta pathology[J]. PLoS One, 2022, 17(10): e0276107. DOI: 10.1371/journal.pone.0276107.

[14] Schupf N, Patel B, Silverman W, et al. Elevated plasma amyloid β-peptide 1-42 and onset of dementia in adults with Down syndrome[J]. Neuroscience Letters, 2001, 301(3): 199-203. DOI: 10.1016/S0304-3940(01)01657-3.

[15] McLaurin J, Cecal R, Kierstead M E, et al. Therapeutically effective antibodies against amyloid-beta peptide target amyloid-beta residues 4-10 and inhibit cytotoxicity and fibrillogenesis[J]. Nature Medicine, 2002, 8(11): 1263-1269. DOI: 10.1038/nm790.

[16] Lafaye P, Achour I, England P, et al. Single-domain antibodies recognize selectively small oligomeric forms of amyloid β, prevent Aβ-induced neurotoxicity and inhibit fibril formation[J]. Molecular Immunology, 2009, 46(4): 695-704. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.09.008.

[17] Paraschiv G, Vincke C, Czaplewska P, et al. Epitope structure and binding affinity of single chain llama anti-β-amyloid antibodies revealed by proteolytic excision affinity-mass spectrometry[J]. Journal of Molecular Recognition, 2013, 26(1): 1-9. DOI: 10.1002/jmr.2210.

[18] Zameer A, Kasturirangan S, Emadi S, et al. Anti-oligomeric Aβ single-chain variable domain antibody blocks Aβ-induced toxicity against human neuroblastoma cells[J]. Journal of Molecular Biology, 2008, 384(4): 917-928. DOI: 10.1016/j.jmb.2008.09.068.

[19] Kasturirangan S, Li L, Emadi S, et al. Nanobody specific for oligomeric beta-amyloid stabilizes nontoxic form[J]. Neurobiology of Aging, 2012, 33(7): 1320-1328. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.020.

[20] Cavaco M, Valle J, da Silva R, et al. $_{D}$PepH3, an improved peptide shuttle for receptor-independent transport across the blood-brain barrier[J]. Current Pharmaceutical Design, 2020, 26(13): 1495-1506. DOI: 10.2174/1381612826666200213094556.

[21] AHMAD A. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: an in vitro proof of concept[D]. Portugal: Universidade NOVA de Lisboa, 2019.

[22] Gallardo G, Holtzman D M. Amyloid-β and Tau at the Crossroads of Alzheimer's disease[M]. Tau biology. Singapore: Springer, 2019: 187-203.

[23] Congdon E E, Ji C Y, Tetlow A M, et al. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease: current status and future direc-

tions[J].Nature Reviews Neurology,2023,19(12):715-736.DOI:10.1038/s41582-023-00883-2.

[24] Gerson J E,Castillo-Carranza D L,Kayed R.Advances in therapeutics for neurodegenerative tauopathies:moving toward the specific targeting of the most toxic Tau species[J].ACS Chemical Neuroscience,2014,5(9):752-769.

[25] Villegas S,Roda A,Serra-Mir G,et al.Amyloid-beta peptide and Tau protein crosstalk in Alzheimer's disease[J].Neural Regeneration Research,2022,17(8):1666.DOI:10.4103/1673-5374.332127.

[26] Dupré E,Danis C,Arrial A,et al.Single domain antibody fragments as new tools for the detection of neuronal Tau protein in cells and in mice studies[J].ACS Chemical Neuroscience,2019,10(9):3997-4006.

[27] McArthur N,Kang B,Rivera Moctezuma F G,et al.Development of a pan-Tau multivalent nanobody that binds Tau aggregation motifs and recognizes pathological Tau aggregates[J].Biotechnology Progress,2024,40(5):e3463.DOI:10.1002/btpr.3463.

[28] McArthur N,Squire J D,Onyeachonam O J,et al.Generation of nanobodies with conformational specificity for Tau oligomers that recognize Tau aggregates from human Alzheimer's disease samples[J].Biomaterials Science,2024,12(23):6033-6046.

[29] Danis C,Dupré E,Zejneli O,et al.Inhibition of Tau seeding by targeting Tau nucleation core within neurons with a single domain antibody fragment[J].Molecular Therapy,2022,30(4):1484-1499.DOI:10.1016/j.ymthe.2022.01.009.

[30] Danis C,Dupré E,Bouillet T,et al.Inhibition of Tau neuronal internalization using anti-Tau single domain antibodies[J].Nature Communications,2025,16:3162.DOI:10.1038/s41467-025-58383-4.

[31] Rauch J N,Luna G,Guzman E,et al.LRP1 is a master regulator of Tau uptake and spread[J].Nature,2020,580(7803):381-385.DOI:10.1038/s41586-020-2156-5.

[32] Benn J,Cheng S,Keeling S,et al.Aggregate-selective removal of pathological Tau by clustering-activated degraders[J].Science,2024,385(6712):1009-1016.DOI:10.1126/science.adp5186.

[33] Kiss L,James L C.The molecular mechanisms that drive intracellular neutralization by the antibody-receptor and RING E3 ligase TRIM21[J].Seminars in Cell & Developmental Biology,2022,126:99-107.DOI:10.1016/j.semcdb.2021.11.005.

[34] Abskharon R,Pan H,Sawaya M R,et al.Structure-based design of nanobodies that inhibit seeding of Alzheimer's patient-extracted Tau fibrils[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2023,120(41):e2300258120.DOI:10.1073/pnas.2300258120.

[35] Zhang F J,Jiang L L.Neuroinflammation in Alzheimer's disease[J].Neuropsychiatric Disease and Treatment,2015:243.DOI:10.2147/ndt.s75546.

[36] Alibhai J D,Diack A B,Manson J C.Unravelling the glial response in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J].The FASEB Journal,2018,32(11):5766-5777.DOI:10.1096/fj.201801360R.

[37] Ingelsson M,Fukumoto H,Newell K L,et al.Early Aβ accumulation and progressive synaptic loss,gliosis,and tangle formation in AD brain[J].Neurology,2004,62(6):925-931.DOI:10.1212/01.wnl.0000115115.98960.37.

[38] Li T F,Vandesquille M,Bay S,et al.Selection of similar single domain antibodies from two immune VHH libraries obtained from two alpacas by using different selection methods[J].Immunology Letters,2017,188:89-95.DOI:10.1016/j.imlet.2017.07.001.

[39] Meier S R,Sehlin D,Syvänen S.Passive and receptor mediated brain delivery of an anti-GFAP nanobody[J].Nuclear Medicine and Biology,2022,114:128-134.DOI:10.1016/j.nucmedbio.2022.04.002.

[40] Morito T,Harada R,Iwata R,et al.Synthesis and pharmacokinetic characterisation of a fluorine-18 labelled brain shuttle peptide fusion dimeric affibody[J].Scientific Reports,2021,11:2588.DOI:10.1038/s41598-021-82037-2.

[41] Morito T,Harada R,Iwata R,et al.Evaluation of 18F labeled glial fibrillary acidic protein binding nanobody and its brain shuttle peptide fusion proteins using a neuroinflammation rat model[J].PLoS One,2023,18(6):e0287047.DOI:10.1371/journal.pone.0287047.

(责任编辑　张晓曼)