

靶向肿瘤免疫微环境放射性药物研究进展

朱凯¹ 刘彩云¹ 辛文斌¹ 刘婷婷² 王旭¹

¹滨州医学院附属医院核医学科, 滨州 256603; ²滨州医学院附属医院医学研究中心, 滨州 256603

通信作者: 王旭, Email: wangxu1978@163.com

【摘要】 免疫治疗在肿瘤治疗领域取得了突破性的进展。如何在早期精确预测肿瘤患者对免疫治疗的响应是目前临床所面临的挑战。核医学分子影像为疾病的早期精确诊断、治疗监测、复发和转移预警以及个体化治疗指导提供了崭新的技术手段, 因此在肿瘤的精准确诊及患者分层中发挥着不可替代的作用。该文综述针对肿瘤微环境内免疫细胞和相关靶点的分子影像研究进展。

【关键词】 放射性药物; 免疫疗法; 肿瘤微环境; 发展趋势

基金项目: 国家自然科学基金(81771828); 山东省高校科研计划(J18KB116); 滨州医学院科技计划项目(BY2022KJ42)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230817-00023

Research progress in radiopharmaceuticals targeting tumor immune microenvironment

Zhu Kai¹, Liu Caiyun¹, Xin Wenbin¹, Liu Tingting², Wang Xu¹

¹Department of Nuclear Medicine, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256603, China; ²Medical Research Center, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256603, China

Corresponding author: Wang Xu, Email: wangxu1978@163.com

【Abstract】 Immunotherapy has made breakthrough in the field of tumor treatment. How to accurately predict the response of tumor patients to immunotherapy in the early stage is currently a clinical challenge. Nuclear medicine molecular imaging provides a new technological means for early accurate diagnosis, treatment monitoring, early warning of recurrence and metastasis, and guidance for personalized treatment of diseases. Therefore, it plays an irreplaceable role in precise diagnosis and treatment of tumors and patient stratification. This article reviews the progress of molecular imaging research on immune cells and related targets within the tumor microenvironment.

【Key words】 Radiopharmaceuticals; Immunotherapy; Tumor microenvironment; Trends

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81771828); Shandong Provincial University Research Program (J18KB116); Binzhou Medical University Science and Technology Plan (BY2022KJ42)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230817-00023

肿瘤是导致人类死亡的主要原因之一, 发病率和死亡率逐年上升^[1]。随着免疫靶向药物治疗的兴起, 了解肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)至关重要, 同时也需要新的成像方法来评估 TME 的动态变化。PET/CT 可用于追踪 TME 中不同分子靶点的动态^[2]。针对免疫检查点和免疫细胞显像的放射性药物也为定义肿瘤免疫微环境提供了独特的视角^[3]。本文综述靶向免疫细胞和免疫检查点的放射性药物在临床中的应用进展。

一、靶向免疫细胞的放射性药物

TME 由肿瘤细胞、肿瘤相关的基质细胞和免疫细胞、分泌的细胞产物和细胞外基质的非细胞成分组成^[4]。局部组织通过免疫、代谢、分泌和功能的变化来影响肿瘤的发生和发展^[5]。肿瘤组织内免疫细胞的浸润数量及状态也影响着肿瘤的发生发展以及各类靶向药物的治疗效果及预后。靶向免疫细胞显像的主要放射性药物研究见表 1。

1. CD8⁺ T 细胞靶向药物。CD8⁺ T 细胞是抗肿瘤免疫反应中最强大的刺激性免疫细胞效应谱系, 是免疫治疗的重要

靶点^[13]。由于在临床中 CD8⁺ T 细胞检测需多次穿刺活组织检查取样, 无创式核素显像的应用变得愈发重要。Kok 等^[6]开发了以 CD8 为靶点的⁸⁹Zr-帕博利珠单抗(简称单抗), 即⁸⁹Zr-pembrolizumab, 并进行了人体研究。Kist de Ruijter 等^[5]评估了该药在 PET 显像中的安全性。这 2 项研究表明, ⁸⁹Zr-pembrolizumab 可以通过 PET 对 CD8⁺ T 细胞进行非侵入性全身可视化, 提供关于肿瘤特征的补充信息, 这种显像可以作为评估肿瘤临床反应的非侵入性方法。但是⁸⁹Zr 的半衰期较长, 重复 PET 显像需要 2 周的间隔, 以保证无放射残留以及抗体完全清除。¹⁸F 标记的小分子显像剂可能更适合连续显像^[6]。此外, Wang 等^[7]使用⁶⁸Ga-环(L-精氨酸甘氨酸-L-α-天冬氨酸-D-酪氨酸-N6-(((4, 7-双(羧甲基)-1, 4, 7-三唑-1-基)乙酰基))-L-赖氨酸] [cyclo(L-arginylglycyl-L-α-aspartyl-D-tyrosyl-N6-(((4, 7-bis(carboxymethyl)-1, 4, 7-triazolan-1-yl)acetyl))-L-lysyl), NODAGA-RGD]-SNA006 进行 PET/CT 显像的临床前及人体研究, 证实了该药物的有效性和安全性, 同时其 PET/CT 显像显示出临床可行性。黎奎等^[8]

表 1 靶向免疫细胞显像的放射性药物研究汇总

靶点	核素	载体	标记方式	研究类型	参考文献
CD8 ⁺ T	⁸⁹ Zr	帕博利珠单抗 (pembrolizumab)	直接标记载体	临床	[5-6]
	⁶⁸ Ga	SNA006	间接标记-NODAGA-RGD	动物+临床	[7]
	⁹⁹ Tc ^m	抗 CD8 抗体片段 (αCD8/Fab)	间接标记-HYNIC	动物	[8]
CD4 ⁺ T	⁶⁴ Cu	中性粒细胞特异性抗原 1 (Nb1)	直接标记载体	临床	[9]
	⁶⁴ Cu	肿瘤坏死因子受体超家族成员 4 抗体 (AbOX40)	间接标记-DOTA	动物	[10]
	¹¹¹ In	8-羟基喹啉 (oxine)	直接标记载体	动物	[11]
Treg	⁸⁹ Zr	8-羟基喹啉盐 4 (oxinate4)	直接标记载体	临床	[12]
	⁸⁹ Zr	-	直接标记细胞	临床	[12]
	⁹⁹ Tc ^m O ₄ ⁻	-	直接标记细胞	临床	[13-14]
TAM	⁹⁹ Tc ^m	甘露聚糖-半胱氨酸 (MSC)	直接标记载体	临床	[15]
	¹⁸ F	含右旋糖酐的甘露聚糖-半胱氨酸 (D10CM)	间接标记-NOTA	动物	[16]
	¹⁸ F	对氟苯甲酸酯 (SFB)	直接标记载体	动物	[17]
NK	⁸⁹ Zr	oxine	直接标记载体	临床	[18]
DC	¹⁸ F	四氟硼酸盐 (TFB)	直接标记载体	动物	[19]
B	⁸⁹ Zr	利妥昔单抗 (rituximab)	直接标记载体	临床	[20]
	⁶⁴ Cu	rituximab	间接标记-DOTA	临床	[21]

注:DC 为树突状细胞;DOTA 为 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸;HYNIC 为联肼尼克酰胺;NK 为自然杀伤细胞;NODAGA-RGD 为环(L-精氨酸甘氨酸-L-α-天冬氨酸-D-酪氨酸-N6-((4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑-1-基)乙酰基))-L-赖氨酸);NOTA 为 1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸;TAM 为肿瘤相关巨噬细胞;Treg 为调节性 T 细胞;单抗为单克隆抗体的简称;-为无载体

合成了 1 种可以靶向 CD8⁺ T 细胞的⁹⁹Tc^m-联肼尼克酰胺 (hydrazinonicotinamide, HYNIC)-αCD8/Fab 探针,可依靠 SPECT 显像对临床预测和评估免疫治疗疗效提供帮助。

2. CD4⁺ T 细胞靶向药物。CD4⁺ T 细胞属于 T 淋巴细胞的异质亚群,可分为不同的表型,参与抗肿瘤免疫反应,能够增强 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤免疫力^[22]。Traenkle 等^[9]开发特异性识别 CD4 的纳米抗体,并使用⁶⁴Cu 标记制备成纳米抗体显像剂。体内研究显示⁶⁴Cu-CD4-中性粒细胞特异性抗原 1 (neutrophil specific antigen 1, Nb1) 特异性聚积在 T 细胞富集的组织中,可以作为多功能探针,用于癌症和炎症疾病的个性化免疫治疗指导。肿瘤坏死因子受体超家族成员 4 (tumor necrosis factor receptor superfamily member 4, TNFRSF4; 即 OX40/CD134) 等在激活型 T 细胞上呈现特异性高表达^[23]。目前,已有研究将核素标记的 OX40 抗体用于 T 细胞显像。Alam 等^[10]描述了 1 种上述探针——⁶⁴Cu-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid, DOTA)-AbOX40, 研究显示该显像剂显像能够预测肿瘤反应,准确性高于血液检查。Pittet 等^[11]使用抗 CD4 抗体偶联¹¹¹In 标记 CD4⁺ T 细胞,然后将其用于结肠炎模型小鼠中。调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 是具有免疫抑制特性的淋巴细胞亚群,是维持体内对自身抗原的耐受性的基础^[24]。Jacob 等^[12]通过 PET/CT 对⁸⁹Zr 标记的 Treg 细胞体内跟踪超过 1 周,而⁸⁹Zr-8-羟基喹啉盐 4 (oxinate4) 作为另一 Treg 显像剂,其对 Treg 的放射性标记效率超过了⁸⁹Zr 直接标记的效率。Feng 等^[13]发现,⁹⁹Tc^mO₄⁻ 直接标记的 Treg 细胞在注射入小鼠体内后主要定位于脾脏、肝脏和肺。另外有研究者利用 SPECT/CT 在体内对⁹⁹Tc^mO₄⁻ 标记的 Treg 细胞进行无创显像,其使用的也是直接标记方法^[14]。

3. 肿瘤相关巨噬细胞 (tumor associate macrophage, TAM) 靶向药物。TAM 是肿瘤进展、转移和治疗耐药的关键驱动因素^[25]。Hagiwara 等^[15]制备了⁹⁹Tc^m-甘露聚糖-半胱氨酸

(mannan-S-cysteine, MSC), 其与巨噬细胞特异性结合。巨噬细胞甘露糖受体 (MMR/CD206) 是检测和鉴定淋巴结的 1 个很有前途的靶点。Andriana 等^[16]用¹⁸F 对含右旋糖酐的甘露聚糖-半胱氨酸 (dextran containing cysteine and mannose moieties, D10CM) 进行放射性标记,得到¹⁸F-1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid, NOTA)-D10CM 用于大鼠的 PET 研究;在注射后 60 min, 在血液中发现 84% 的完整显像剂,表明了¹⁸F-NOTA-D10CM 良好的体内稳定性,提示其是适合的 PET 显像剂。但是需要对甘露糖受体巨噬细胞的疾病模型进行进一步的研究,以阐明该显像剂在炎症反应显像方面的潜力。Blykers 等^[17]用人和小鼠的细胞外结构域开发了¹⁸F-对氟苯甲酸甲酯 (fluorobenzoate, SFB), 并在小鼠肿瘤模型中评估了其在巨噬细胞靶向方面的生物分布、肿瘤靶向潜力和特异性。¹⁸F-SFB 的合成成为肿瘤基质中促进肿瘤的巨噬细胞亚群的 PET 显像提供了最佳探针。

4. 其他免疫细胞靶向的放射性药物。除上述免疫抑制细胞外, TME 中还存在其他免疫细胞,如自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞、树突状细胞 (dendritic cell, DC)、B 细胞等。NK 细胞是 1 种先天毒性淋巴细胞^[26]。Sato 等^[18]使用⁸⁹Zr-8-羟基喹啉 (oxine) 标记 NK 细胞,利用 PET/CT 评估 NK 细胞表型、功能和存活率。这项研究发现 NK 细胞可以保留足够的⁸⁹Zr 水平以进行 7 d 的体内跟踪,没有改变细胞表型、活力或功能。

DC 是 1 种特殊类型的抗原呈递细胞^[27]。由于其强大的抗原呈递和刺激 T 细胞反应的能力,被认为是启动和维持抗肿瘤免疫的关键因素。Lee 等^[19]利用¹⁸F-四氟硼酸盐 (tetrafluoroborate, TFB) 探索分子遗传学显像的可行性。将亲代 DC 分别注射到小鼠脚垫,用¹⁸F-TFB PET/CT 在活鼠中监测这些细胞,结果显示¹⁸F-TFB PET/CT 显像有较高的应用价值,具有作为 PET 探针的潜力。

B 细胞通过抑制抗肿瘤免疫在癌症中发挥相反的作用^[28]。有研究者利用 B 细胞标志物 CD20 显像剂⁸⁹Zr-利妥昔单抗(rituximab)^[20]和⁶⁴Cu-DOTA-rituximab^[21]进行 PET 显像研究,结果表明其在检测原发性肿瘤方面具有高特异性和高灵敏度。临床证据表明,免疫 PET 可以发现未知的淋巴结和远处转移,也可以用作治疗性放射性药物使用前的放射剂量的测定^[20]。

二、靶向免疫检查点的放射性药物

免疫检查点是机体免疫系统的保护因子,然而,在 TME 中,肿瘤细胞通过自身进展机制抑制免疫系统的功能,使免疫细胞不能正常识别和杀死肿瘤细胞,导致免疫逃逸,引起肿瘤细胞的恶性增殖^[29]。靶向免疫检查点显像可以无创探查肿瘤组织中免疫检查点的表达状况,为后续免疫检查点抑制剂治疗提供有效指导。已有靶向免疫检查点显像的放射性药物研究见表 2。

1.程序性细胞死亡受体配体 1(programmed death ligand-1, PD-L1)/程序性细胞死亡受体 1(programmed death-1, PD1)靶向药物。PD-1 及其配体 PD-L1 在免疫逃逸机制中起着重要作用^[41]。PD-1 和 PD-L1 一旦结合便会向 T 细胞传递负向调控信号,导致 T 细胞无法识别癌细胞,肿瘤细胞从而实现免疫逃逸^[42]。PET 显像可以定量检测肿瘤原发灶及转移灶的 PD-1/PD-L1 表达水平的变化,在指导 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂治疗方面具有重要意义。目前,⁸⁹Zr-阿替利珠单抗(atenzolizumab)^[30]、¹⁸F-BMS-986192^[31]等多种 PD-L1 靶向探针已成功应用于临床转化研究。恩沃利单抗(envolizumab,即 KN035)是目前全球首个进入临床开发的 PD-L1 单域抗体,具有较低的相对分子质量,因此其肿瘤穿透性较好,并可在注射后更短时间内进行显像,同时保持良好的 PD-L1 亲和性^[43]。Li 等^[32]用⁸⁹Zr-去铁敏(desferoxamine, Df)-KN035 对荷人胶质瘤小鼠进行 PET 显像,发现该药物具有标记快速、稳定的高亲和性及肿瘤快速高摄取、长时间滞留等多种优势。Kist de Ruijter 等^[33]进行了⁸⁹Zr-帕克利单抗(pacmilimab,即 CX-072) PET 显像,发现⁸⁹Zr-CX-072 在 PD-L1 表达 $\leq 1\%$ 的病变中也表现出明显摄取,正常器官低摄取。另外,靶向 PD-L1 的纳米抗体探针已完成临床前及 I 期临床试验^[44]。邢岩等^[34]使用⁹⁹Tc^m 标记 PD-L1 的纳米抗体

(nanoantibodies, NM-01),该标记药物 SPECT 显像能够显示非小细胞肺癌原发灶和转移灶的 PD-L1 表达水平。临床试验中使用的 PD-1 显像剂包括⁸⁹Zr-pembrolizumab^[35]、⁶⁴Cu-pembrolizumab^[36]以及⁸⁹Zr-纳武单抗(nivolumab)^[37]。研究者在晚期非小细胞肺癌患者中证实了⁸⁹Zr-pembrolizumab 显像的安全性和可行性,研究结果表明肿瘤摄取率较高的患者显示出对 pembrolizumab 治疗更好的反应趋势^[35-36]。

2.细胞毒性淋巴细胞抗原 4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)靶向药物。CD8⁺ T 细胞表面存在 1 种免疫球蛋白,被称为 CTLA-4(CD152)^[45]。CTLA-4 显像剂包括⁶⁴Cu-NOTA-伊匹单抗(ipilimumab)和⁶⁴Cu-DOTA-ipilimumab^[38-39]等,尚未进入临床试验。Ehlerding 等^[39]针对 2 种 CTLA-4 的显像剂[1 种是全抗体,另 1 种是 F(ab)₂ 片段],用⁶⁴Cu 进行放射性标记,开发了基于 ipilimumab 的分子显像剂,并在人源化小鼠模型中进行了验证,成功使 CTLA-4 可视化。为测量 CTLA-4 表达量和靶向 CTLA-4 治疗提供了方法。

3.其他免疫检查点靶向药物。淋巴细胞活化基因 3(lymphocyte-activation gene-3, LAG-3)是 1 个淋巴细胞激活基因^[46]。Miedema 等^[40]探讨了抗 LAG-3 抗体显像剂⁸⁹Zr-BI 作为预测性影像生物标志物的潜在用途,研究了其靶标特异性摄取以及肿瘤摄取与肿瘤免疫浸润的相关性,发现迈纳利单抗(miptenlimab, Zr-BI-754111)显像具有良好的生物学特性,有助于定向免疫治疗的生物标志物成像检测研究。

针对免疫检查点的分子显像可以在一定程度上代替免疫组织化学检测,可以对这些免疫治疗的靶点表达进行无创性可视化,并且可以一次性对全身多个肿瘤转移灶的免疫检查点进行探查,对于临床上免疫检查点抑制剂用药具有较强的指导意义。

三、小结与未来发展趋势

核医学分子影像以体内特定的分子作为显像靶点,为研究人员提供了非侵入性的、实时的、定量的生物学信息,有望优化免疫治疗策略。针对免疫细胞探针技术可以追踪和监测免疫细胞的活动,有助于评估免疫治疗期间细胞浸润的程度和效果,以及及时发现可能的治疗抵抗情况。同时针对检查点的探针可以提供对免疫检查点的高分辨率图像,帮助研究人员了解其在不同组织和肿瘤中的表达情况,以指导检查

表 2 靶向免疫检查点显像的放射性药物研究汇总

靶点	核素	载体	标记方式	研究类型	参考文献
PD-L1	⁸⁹ Zr	阿替利珠单抗(atenzolizumab)	直接标记载体	临床	[30]
	¹⁸ F	BMS-986192	直接标记载体	临床	[31]
	⁸⁹ Zr	恩沃利单抗(KN035)	间接标记-Df	动物	[32]
	⁸⁹ Zr	帕克利单抗(CX-072)	直接标记载体	临床	[33]
	⁹⁹ Tc ^m	抗 PD-L1 纳米抗体(NM-01)	直接标记载体	临床	[34]
PD-1	⁸⁹ Zr	帕博利珠单抗(pembrolizumab)	直接标记载体	临床	[35]
	⁶⁴ Cu	pembrolizumab	直接标记载体	临床	[36]
	⁸⁹ Zr	纳武单抗(nivolumab)	直接标记载体	临床	[37]
CTLA-4	⁶⁴ Cu	伊匹单抗(ipilimumab)	间接标记-NOTA	动物	[38]
	⁶⁴ Cu	ipilimumab	间接标记-DOTA	动物	[39]
LAG-3	⁸⁹ Zr	迈纳利单抗(BI-754111)	直接标记载体	临床	[40]

注:CTLA-4 为细胞毒性淋巴细胞抗原 4;Df 为去铁敏;DOTA 为 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸;LAG-3 为淋巴细胞活化基因 3;NOTA 为 1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸;PD-1 为程序性细胞死亡受体 1;PD-L1 为程序性细胞死亡受体配体 1;单抗为单克隆抗体的简称

点抑制剂的治理策略。最大的优势是可以提供全身性的信息,帮助研究人员了解免疫细胞在整个生物体内的分布和活化状态。结合不同模态的优势提供免疫细胞和检查点的定量信息,有助于更精确地评估机体免疫功能状态。

肿瘤免疫微环境靶向显像的不足之处在于临床诊疗活动中往往需要一次性评估多种免疫细胞或检查点的定量和分布以确定最终的诊疗方案,而分子影像技术进行 1 次检查往往只能知晓其中 1 种的具体情况。另外,设备购置、运行、维护和显像剂制备等成本较高,限制了其在相对落后的地区的广泛应用,且对于患者经济压力较重。同时,涉及到放射性核素的辐射暴露,如需多次显像则对患者的长期健康可能产生一定影响。

未来的发展可能包括提高分辨率、降低成本、减少辐射暴露、拓展生物标志物范围等方面的技术创新。这将使得分子影像技术更好地满足在免疫治疗领域对于免疫细胞活动监测的需求。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 朱凯、刘彩云:文献收集与整理、论文撰写;辛文斌、刘婷婷:论文修改;王旭:论文修改、经费支持、研究指导

参 考 文 献

- [1] Murthy SS, Are C. Inequities in cancer surgical research capacity in the global south and strategies to address them[J]. *J Surg Oncol*, 2023, 128(6): 947-951. DOI:10.1002/jso.27446.
- [2] Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 23): 5591-5596. DOI:10.1242/jcs.116392.
- [3] Sugiura D, Maruhashi T, Okazaki IM, et al. Restriction of PD-1 function by cis-PD-L1/CD80 interactions is required for optimal T cell responses[J]. *Science*, 2019, 364(6440): 558-566. DOI:10.1126/science.aav7062.
- [4] Lee HW, Chung W, Lee HO, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the tumor microenvironment and facilitates strategic choices to circumvent treatment failure in a chemorefractory bladder cancer patient[J]. *Genome Med*, 2020, 12(1): 47. DOI:10.1186/s13073-020-00741-6.
- [5] Kist de Ruijter L, van de Donk PP, Hooiveld-Noeken JS, et al. Whole-body CD8⁺ T cell visualization before and during cancer immunotherapy: a phase I/2 trial[J]. *Nat Med*, 2022, 28(12): 2601-2610. DOI:10.1038/s41591-022-02084-8.
- [6] Kok IC, Hooiveld JS, van de Donk PP, et al. ⁸⁹Zr-pembrolizumab imaging as a non-invasive approach to assess clinical response to PD-1 blockade in cancer[J]. *Ann Oncol*, 2022, 33(1): 80-88. DOI:10.1016/j.annonc.2021.10.213.
- [7] Wang Y, Wang C, Huang M, et al. Pilot study of a novel nanobody ⁶⁸Ga-NODAGA-SNA006 for instant PET imaging of CD8⁺ T cells[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 49(13): 4394-4405. DOI:10.1007/s00259-022-05903-9.
- [8] 黎奎,高立权,杨秀杰,等.肿瘤浸润 CD8⁺ T 细胞 SPECT/CT 显像预测抗 PD-1 免疫治疗疗效的小鼠实验[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2022, 42(10): 607-612. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210705-00219.
- Li K, Gao LQ, Yang XJ, et al. SPECT/CT imaging of tumor-infiltrating CD8⁺ T cell to predict the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy in mice[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 42(10): 607-612. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210705-00219.
- [9] Traenkle B, Kaiser PD, Pezzana S, et al. Single-domain antibodies for targeting, detection, and *in vivo* imaging of human CD4⁺ cells[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 799910. DOI:10.3389/fimmu.2021.799910.
- [10] Alam IS, Mayer AT, Sagiv-Barfi I, et al. Imaging activated T cells predicts response to cancer vaccines[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(6): 2569-2580. DOI:10.1172/JCI98509.
- [11] Pittet MJ, Grimm J, Berger CR, et al. *In vivo* imaging of T cell delivery to tumors after adoptive transfer therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(30): 12457-12461. DOI:10.1073/pnas.0704460104.
- [12] Jacob J, Volpe A, Peng Q, et al. Radiolabelling of polyclonally expanded human regulatory T cells (Treg) with ⁸⁹Zr-oxine for medium-term *in vivo* cell tracking[J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1482. DOI:10.3390/molecules28031482.
- [13] Feng Q, Liu Z, Yu X, et al. Lactate increases stemness of CD8⁺ T cells to augment anti-tumor immunity[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4981. DOI:10.1038/s41467-022-32521-8.
- [14] Jacob J, Nadkarni S, Volpe A, et al. Spatiotemporal *in vivo* tracking of polyclonal human regulatory T cells (Tregs) reveals a role for innate immune cells in Treg transplant recruitment[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2021, 20: 324-336. DOI:10.1016/j.omtm.2020.12.003.
- [15] Hagiwara Y, Higashi K, Hagita H, et al. Preparation of ^{99m}Tc-labeled mannan-S-cysteine and effect of molecular size of mannan on its biodistribution[J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(5): 819-826. DOI:10.1248/bpb.b19-00026.
- [16] Andriana P, Makrypidi K, Liljenbäck H, et al. Aluminum fluoride-18 labeled mannosylated dextran: radiosynthesis and initial preclinical positron emission tomography studies[J]. *Mol Imaging Biol*, 2023, 25(6): 1094-1103. DOI:10.1007/s11307-023-01816-7.
- [17] Blykers A, Schoonoghe S, Xavier C, et al. PET imaging of macrophage mannose receptor-expressing macrophages in tumor stroma using ¹⁸F-radiolabeled camelid single-domain antibody fragments[J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(8): 1265-1271. DOI:10.2967/jnumed.115.156828.
- [18] Sato N, Stringaris K, Davidson-Moncada J K, et al. *In vivo* tracking of adoptively transferred natural killer cells in rhesus macaques using ⁸⁹Zirconium-oxine cell labeling and PET imaging[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2573-2581. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-2897.
- [19] Lee SB, Lee HW, Lee H, et al. Tracking dendritic cell migration into lymph nodes by using a novel PET probe ¹⁸F-tetrafluoroborate for sodium/iodide symporter[J]. *EJNMMI Res*, 2017, 7(1): 32. DOI:10.1186/s13550-017-0280-5.
- [20] Natarajan A, Gambhir SS. Radiation dosimetry study of [⁸⁹Zr]rituximab tracer for clinical translation of B cell NHL imaging using positron emission tomography[J]. *Mol Imaging Biol*, 2015, 17(4): 539-547. DOI:10.1007/s11307-014-0810-8.
- [21] Natarajan A, Gowrishankar G, Nielsen CH, et al. Positron emission tomography of ⁶⁴Cu-DOTA-rituximab in a transgenic mouse model expressing human CD20 for clinical translation to image NHL[J]. *Mol Imaging Biol*, 2012, 14(5): 608-616. DOI:10.1007/s11307-011-0537-8.
- [22] Wang B, Hu S, Fu X, et al. CD4⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunity and immunotherapy[J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2023, 7(4): e2200169. DOI:10.1002/adbi.202200169.

- [23] Choyke PL. Can molecular imaging measure T-cell activation? [J]. *Cancer Res*, 2020, 80 (14): 2975-2976. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1146.
- [24] Katoh H, Zheng P, Liu Y. FOXP3: genetic and epigenetic implications for autoimmunity [J]. *J Autoimmun*, 2013, 41: 72-78. DOI:10.1016/j.jaut.2012.12.004.
- [25] Müller S, Kohanbash G, Liu SJ, et al. Single-cell profiling of human gliomas reveals macrophage ontogeny as a basis for regional differences in macrophage activation in the tumor microenvironment [J]. *Genome Biol*, 2017, 18 (1): 234. DOI: 10.1186/s13059-017-1362-4.
- [26] Liu S, Galat V, Galat Y, et al. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14 (1): 7. DOI: 10.1186/s13045-020-01014-w.
- [27] Sun NY, Chen YL, Lin HW, et al. Immune checkpoint Ab enhances the antigen-specific anti-tumor effects by modulating both dendritic cells and regulatory T lymphocytes [J]. *Cancer Lett*, 2019, 444: 20-34. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.11.039.
- [28] Shang J, Zha H, Sun Y. Phenotypes, functions, and clinical relevance of regulatory B cells in cancer [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 582657. DOI: 10.3389/fimmu.2020.582657.
- [29] Gao S, Li N, Gao S, et al. Neoadjuvant PD-1 inhibitor (Sintilimab) in NSCLC [J]. *J Thorac Oncol*, 2020, 15 (5): 816-826. DOI: 10.1016/j.jtho.2020.01.017.
- [30] Bensch F, van der Veen EL, Lub-de Hooge MN, et al. ⁸⁹Zr-atezolizumab imaging as a non-invasive approach to assess clinical response to PD-L1 blockade in cancer [J]. *Nat Med*, 2018, 24 (12): 1852-1858. DOI: 10.1038/s41591-018-0255-8.
- [31] Nimmagadda S. Quantifying PD-L1 expression to monitor immune checkpoint therapy: opportunities and challenges [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12 (11): 3173. DOI: 10.3390/cancers12113173.
- [32] Li D, Cheng S, Zou S, et al. Immuno-PET imaging of ⁸⁹Zr labeled anti-PD-L1 domain antibody [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15 (4): 1674-1681. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00062.
- [33] Kist de Ruijter L, Hooiveld-Noeken JS, Giesen D, et al. First-in-human study of the biodistribution and pharmacokinetics of ⁸⁹Zr-CX-072, a novel immunopet tracer based on an anti-PD-L1 probody [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27 (19): 5325-5333. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-0453.
- [34] 邢岩, 赵凌舟, 刘长存, 等. 基于⁹⁹Tc^m 标记纳米抗体的 SPECT/CT 显像探测非小细胞肺癌 PD-L1 表达的研究 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2022, 42 (2): 80-83. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211206-00434.
- Xing Y, Zhao LZ, Liu CC, et al. SPECT/CT imaging of PD-L1 expression in non-small cell lung cancer based on ⁹⁹Tc^m labeled anti-PD-L1 nanoantibodies [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 42 (2): 80-83. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211206-00434.
- [35] Niemeijer AN, Oprea-Lager DE, Huisman MC, et al. Study of ⁸⁹Zr-pembrolizumab PET/CT in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer [J]. *J Nucl Med*, 2022, 63 (3): 362-367. DOI: 10.2967/jnumed.121.261926.
- [36] Natarajan AT, Mayer AT, Reeves RE, et al. Development of novel immunoPET tracers to image human PD-1 checkpoint expression on tumor-infiltrating lymphocytes in a humanized mouse model [J]. *Mol Imaging Biol*, 2017, 19 (6): 903-914. DOI: 10.1007/s11307-017-1060-3.
- [37] Niemeijer AN, Leung D, Huisman MC, et al. Whole body PD-1 and PD-L1 positron emission tomography in patients with non-small-cell lung cancer [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 4664. DOI: 10.1038/s41467-018-07131-y.
- [38] Ehlerding EB, England CG, Majewski RL, et al. ImmunoPET imaging of CTLA-4 expression in mouse models of non-small cell lung cancer [J]. *Mol Pharm*, 2017, 14 (5): 1782-1789. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00056.
- [39] Ehlerding EB, Lee HJ, Jiang D, et al. Antibody and fragment-based PET imaging of CTLA-4⁺ T-cells in humanized mouse models [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9 (1): 53-63.
- [40] Miedema I, Huisman MC, Zwezerijnen G, et al. ⁸⁹Zr-immuno-PET using the anti-LAG-3 tracer [⁸⁹Zr]Zr-BI 754111: demonstrating target specific binding in NSCLC and HNSCC [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 50 (7): 2068-2080. DOI: 10.1007/s00259-023-06164-w.
- [41] 张国强, 罗全勇. PD-1/PD-L1 免疫检查点在甲状腺疾病中的作用 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43 (2): 118-121. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211019-00363.
- Zhang GQ, Luo QY. Roles of PD-1/PD-L1 immune checkpoint in thyroid diseases [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 43 (2): 118-121. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211019-00363.
- [42] Lv G, Sun X, Qiu L, et al. PET imaging of tumor PD-L1 expression with a highly specific nonblocking single-domain antibody [J]. *J Nucl Med*, 2020, 61 (1): 117-122. DOI: 10.2967/jnumed.119.226712.
- [43] Zhang F, Wei H, Wang X, et al. Structural basis of a novel PD-L1 nanobody for immune checkpoint blockade [J]. *Cell Discov*, 2017, 3: 17004. DOI: 10.1038/celldisc.2017.4.
- [44] Xia L, He C, Guo Y, et al. Preparation and application of a bioorganic nanoparticle-enhanced PDL1-targeted small-molecule probe [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15 (25): 30619-30629. DOI: 10.1021/acsami.3c03931.
- [45] Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving target in immunotherapy [J]. *Blood*, 2018, 131 (1): 58-67. DOI: 10.1182/blood-2017-06-741033.
- [46] 陈肖玥, 孙健雯, 张国强, 等. 免疫检查点 IDO-1、LAG-3、TIM-3 与分化型甲状腺癌临床病理特征及预后的相关性 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2021, 41 (4): 196-200. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200609-00227.
- Chen XY, Sun JW, Zhang GQ, et al. Correlation of IDO-1, LAG-3 and TIM-3 with clinicopathological features and prognosis of differentiated thyroid cancer [J]. *Chin J Nuclear Med and Mol Imaging*, 2021, 41 (4): 196-200. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200609-00227.

(收稿日期: 2023-08-17)