

分子影像技术在嵌合抗原受体 T 细胞疗法中的应用

吴琼 王燕 杨敏

国家卫生健康委员会核医学重点实验室、江苏省分子核医学重点实验室、江苏省原子医学研究所,无锡 214063

通信作者:杨敏, Email: yangmin@jsinm.org

【摘要】 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)疗法是一种新型肿瘤免疫治疗方法,近年来在治疗血液系统肿瘤方面表现出巨大潜力,尤其在治疗复发或难治性急、慢性白血病上已取得突破性进展。目前,CAR-T 疗法尚缺乏体内实时监控的有效手段,在治疗血液肿瘤的过程中无法预测及监测治疗效果,从而无法准确预估治疗过程中的并发症和风险,在临床转化过程中面临诸多挑战。分子影像有望用于 CAR-T 体内生物学行为实时可视化监测,直接标记细胞和报告基因间接评价研究已取得相关突破。该文综述了近年来分子影像技术在 CAR-T 治疗中的应用并进行展望。

【关键词】 免疫疗法;受体,抗原,T 细胞;分子成像;发展趋势

基金项目:国家重大新药创制项目(2017ZX09304021);江苏省前沿引领技术基础研究计划(BK20192005);江苏省医学创新团队(CXTDA2017024)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20201026-00390

Application of molecular imaging in chimeric antigen receptor T cell therapy

Wu Qiong, Wang Yan, Yang Min

NHC Key Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China

Corresponding author: Yang Min, Email: yangmin@jsinm.org

【Abstract】 Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) therapy, a novel immunotherapy, shows great potential in the treatment of hematological tumors to conventional therapies. Great progress has been made over the past few decades in the treatment of relapsed/refractory acute/chronic lymphocytic leukemia. However, due to the lack of real-time monitoring methods, it is impossible to predict and assess the therapeutic effect during the treatment of blood tumors, and we cannot learn more about the complications and risks. Many challenges exist in the clinical transformation of CAR-T therapy. As a non-invasive method, molecular imaging shows promise on real-time visualization of the biological behavior of CAR-T *in vivo*. Tracking CAR-T by directly labeling or indirectly evaluation by reporter gene methods has achieved breakthroughs. This article reviews the current situation of monitoring systems of CAR-T therapy and future expectations for each of the methods presented.

【Key words】 Immunotherapy; Receptors, antigen, T-Cell; Molecular imaging; Trends

Fund program: National Significant New Drugs Creation Program (2017ZX09304021); Leading Technology Foundation Research Project of Jiangsu Province (BK20192005); Jiangsu Provincial Medical Innovation Team (CXTDA2017024)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20201026-00390

肿瘤免疫治疗是继手术、放疗和化疗以外第 4 种被广泛运用于肿瘤的治疗策略^[1]。嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)疗法是一种新型过继免疫的细胞治疗技术,该方法通过提取患者血液中的免疫 T 细胞进行体外基因工程改造使其表达相关嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR),再经体外大量扩增后回输至患者体内,进行肿瘤治疗。CAR 是一种跨膜嵌合蛋白,经基因转导技术,使被修饰细胞形成可特异性结合肿瘤抗原的单链可变胞外片段(single chain fragment variable, scFv)、铰链区、跨膜区及 1 个或 1 个以上的细胞内信号转导区域^[2-3]。本文对 CAR-T 疗法临床应用和挑战,以及分子影像技术在 CAR-T 疗法中的研究进展进行综述。

一、CAR-T 疗法的临床应用和挑战

2017 年 8 月,全球第 1 个用于 25 岁以下复发或难治性急性 B 淋巴细胞白血病的靶向 CD19 的 CAR-T 药物 Kymriah 被美国食品与药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市^[4];同年 10 月,治疗复发或难治性大 B 细胞淋巴瘤的 CAR-T 药物 Yescarta 再次获得批准上市^[5]。这 2 种 CAR-T 治疗药物的上市开启了新的细胞治疗时代。

为评估 CAR-T 治疗在临床应用中的作用,大量临床试验在全球多个临床中心开展。1 项临床研究显示,在初次使用 CD19 CAR-T 治疗 3 例难治性晚期慢性淋巴细胞白血病患者时,有 2 例获得完全缓解^[6]。近期进一步证实该疗法总体反应率达 57%,且细胞的抗肿瘤活性至少可维持 3 年^[7]。另

1 项抗 CD19 CAR-T 临床试验也取得了进展,20 例儿童复发或难治性 B 细胞急性淋巴细胞白血病患者中有 14 例完全缓解,且有 12 例未检测到微小残留病灶^[8]。目前,靶向 CD19 的血液系统恶性肿瘤临床研究已超过 100 项^[9-10],国内多家大型三甲医院合作,已完成包括急/慢性淋巴细胞白血病、霍奇金/非霍奇金淋巴瘤等血液肿瘤 160 余例,与国际临床试验中所报道的疗效一致^[11]。

目前,CAR-T 疗法无法准确预估治疗过程中的并发症和风险,在临床转化过程中面临诸多挑战。

1. 脱靶效应。尚未发现肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA),因此多数靶抗原会在正常组织中低水平表达,CAR-T 作用于肿瘤细胞时也会对正常组织和细胞造成损伤(即脱靶效应)。在 1 项靶向人表皮生长因子受体 2 (human epithelial growth factor receptor 2, HER2) 的 CAR-T 研究中,1 例结肠癌肝转移患者因大量 CAR-T 杀伤低表达 HER2 的正常肺组织细胞导致急性肺水肿而死亡^[12]。

2. 细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)。CAR-T 输注进体内后与带有肿瘤抗原的细胞接触、增殖,在对肿瘤细胞产生杀伤作用的同时,产生和释放一系列细胞因子,对患者造成相关损害的综合征,即 CRS^[13]。这是 CAR-T 疗法中常见的不良反应之一。在 1 项临床研究中,30 例复发或难治型急性淋巴细胞白血病患者在接受 CD19 CAR-T 治疗后,几乎均出现 CRS,其中有 8 例较为严重^[14]。

3. 实体肿瘤疗效有限。首先,治疗效果与 CAR-T 数量、活性相关。CAR-T 可以与血液肿瘤细胞直接接触而有效治疗血液系统恶性肿瘤。对于实体瘤,CAR-T 需要从外周血转移至实体瘤组织,并穿越实体瘤早期形成的坚实团块物才能发挥抗肿瘤作用,因此迁移到实体瘤组织的 CAR-T 数量与活性大大减少。另一大挑战是靶点的选择。瘤组织具有异质性,同一肿瘤组织上可以表达多种靶抗原,因此单靶点 CAR-T 无法根治实体瘤^[15]。

综上,CAR-T 疗法目前迫切需要进行安全性和疗效研究。为准确评估和预测 CAR-T 疗效和临床治疗风险,开展 CAR-T 药代动力学与药效学研究成为必要而紧迫的任务,但目前相关研究技术尚不足,缺乏能实时和系统监控 CAR-T 体内分布和增殖的有效方法。

二、CAR-T 疗法的监测

理想的监测手段应包括治疗过程的每个环节,如追踪 T 细胞迁移、与携带抗原的肿瘤细胞接触、肿瘤部位扩增和持续存在的能力^[16-17]。患者的 T 细胞功能有高有低,自体 CAR-T 回输后在体内相应的扩增能力也存在个体差异,所以在疗效和 CRS 方面也存在较大的个体差异。目前急需找到能实时监控 CAR-T,实现体内分布和扩增可视化的方法,从而对患者的疗效和风险做出预估,推动临床应用。

目前,可以进行外周血肿瘤特异性 T 细胞直接计数、与 T 细胞活化相关的细胞因子血清分析和(重复)肿瘤活组织检查(简称活检)等操作监测 CAR-T 疗法的临床疗效。但这些检测方法存在如下挑战:(1)无法在无创条件下实现对 CAR-T 体内代谢动力学监测;(2)无法考察 CAR-T 在全身各正常组织分布情况以评估其安全性;(3)无法实时定量 CAR-T 在全身所有瘤组织(含原位病灶和转移灶)中的分布和增殖

情况以评估其有效性。分子影像技术可以使 CAR-T 体内分布过程可视化,实现实时、动态监测细胞在体内分布、增殖和迁移等过程,从而对患者的疗效和风险做出预估和评估。

1. 光学成像。生物发光成像和荧光发光成像统称为光学成像,可用于观测特异性细胞、基因和分子的表达或相互作用关系,并能够从时间、环境、发展和治疗效果等方面进行跟踪。为了解决 CAR-T 疗法实时监测的问题,Liu 等^[18]将新的抗表皮生长因子受体 III 型突变体(epidermal growth factor receptor variant III, EGFRv III)单克隆抗体生物素化,预靶向到 EGFRv III 表达阳性的胶质瘤,设计出表达亲和素-CAR-T,体外实验结果显示二者可特异性结合,光学成像和生物分布研究证实此 CAR-T 疗法具有靶向特异性,并进一步确认了体内 T 细胞过继转移的最佳时间。但是,在进行光学成像时,光源的深度、组织穿透和散射等因素会对定量结果产生影响,同一动物中不同光信号以及不同动物的光信号进行比较时会产生误差,该局限导致利用光学显像进行 CAR-T 研究时只能进行半定量分析。

2. SPECT 显像。通过直接标记细胞进行 SPECT 显像已在临床应用数十年,如用⁹⁹Tc^m 或¹¹¹In 标记白细胞和骨髓干细胞进行 SPECT 显像^[19-20];其中,¹¹¹In 标记 oxine 已获得美国和欧洲专利,并被 FDA 批准应用于白细胞放射性标记^[21]。Stanton 等^[22]进行¹¹¹In-oxine 标记 T 细胞 SPECT 显像以监测广泛骨转移乳腺癌患者中 HER2/neu 特异性 T 细胞的释放,结果表明 T 细胞可浸润肿瘤并可迁移至转移瘤,输注后 24 h 右侧肱骨近端和右侧骨病灶处,每像素¹¹¹In 放射性计数与本底的比值分别为 3.8 和 6.3,并在 48 h 内持续升高。Emami-Shahri 等^[23]使用人钠碘转运蛋白(human sodium iodide symporter, hNIS)作为 CAR-T 的报告基因,与临床上广泛使用的显像剂⁹⁹Tc^mO₄ 结合并进行 SPECT 显像,结果显示表达 hNIS 的 CAR-T 定点植入于左肩可以与⁹⁹Tc^mO₄ 特异性结合,⁹⁹Tc^mO₄ 作为 1 种无毒、廉价且易于获得的显像剂,有望用于 CAR-T 体内定位和定量分析。但为了获得较为清晰的 SPECT 显像图,注射的显像剂剂量达 25 MBq/10⁷ 个细胞,因此对器官照射剂量大,在临床实际应用中还存在较多困难^[24]。

3. PET 显像。PET 是目前最先进的活体显像技术之一,具有高分辨率和高灵敏度的优点,在 CAR-T 活体显像方面具有很大优势。与光学显像不同的是,放射性核素衰变释放的射线信号特异性强,在 PET 显像时不受探测深度影响,也不会受生物基质干扰,有利于深入分析包括物质定性、定量和定位^[25]。

目前已有诸多正电子直接标记细胞后用 PET 显像进行细胞体内分布的研究报道,如⁸⁹Zr、⁶⁴Cu、⁵²Mn 等^[26-32]。Weist 等^[29]发现⁸⁹Zr-oxine 可被用于细胞标记和 PET 显像,结果显示当 70 kBq ⁸⁹Zr-oxine 与 1×10⁶ 个 CAR-T 共同温育时,CAR-T 标记率较高(75%),6 d 内外体稳定性尚可,且体外细胞因子、细胞活率、细胞增殖以及肿瘤细胞毒性等均没有显著降低;体内 PET 显像结果也可观察到肿瘤的靶向性,与阴性对照组相比,前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen, PSCA)CAR-T 在肿瘤与肌肉本底的摄取比高出 9 倍,但⁸⁹Zr-oxine 标记 CAR-T 体内示踪存在 2 个明显缺点:第一,核素在正常组织(如肝、脾等)和 CAR-T 中长期滞留,产生不必要的

辐照;第二,因 CAR-T 增殖使核素被稀释,无法检测,因此至今未见⁸⁹Zr 标记 CAR-T 临床应用的报道。为实现 CAR-T 早期体内生物学行为研究,同时降低核素对 CAR-T 和正常组织的损伤,Wang 等^[33]采用短半衰期核素⁶⁸Ga 进行 CAR-T 标记,与⁸⁹Zr 标记 CAR-T 进行比较,探索早期、快速评价 CAR-T 体内性能的可行性。结果显示,⁶⁸Ga 标记 CAR-T 可以获得较理想的放化纯和体外稳定性,在 NSG 小鼠尾静脉注射⁶⁸Ga 标记的 CAR-T 后 6 h 内,观察到与⁸⁹Zr 标记细胞相似的生物学行为,提示⁶⁸Ga 标记可用于早期 CAR-T 体内分布研究。此外,由于⁶⁸Ga 具有更短的半衰期,⁶⁸Ga 标记在单个细胞中的吸收剂量比⁸⁹Zr 标记低得多,在体内总吸收剂量仅为⁸⁹Zr 标记细胞的 1/24,因此⁶⁸Ga 标记细胞方法更为安全。

另一 CAR-T 示踪方法为报告基因显像,该方法引入细胞基因组的报告基因,然后翻译成蛋白质(如酶或细胞表面受体)与放射性标记探针结合进行显像(表 1)。报告基因的稳定表达理论上能够在较长时间内对标记细胞进行连续显像,且由于报告基因可将放射性探针的靶点传递给子代细胞,可以实现细胞群扩增显像的示踪,从而提供关于细胞增殖的信息。

表 1 报告基因及对应分子探针

报告基因	标记探针		
	光学成像	SPECT 显像	PET 显像
EGFR	生物素-4G1	-	-
hNIS	-	⁹⁹ Tc ^m O ₄ ⁻ 123/125 I	¹²⁴ I
HSV1-tk	-	^{123/131/125} I-FIAU	¹⁸ F-FHBG ¹⁸ F-FHPG ¹⁸ F-FEAU ¹⁸ F-FLT ¹⁸ F-FMAU ¹⁸ F-FIAU ¹²⁴ I-FIAU
eDFHR	-	-	¹⁸ F-TMP
PSMA	-	-	¹⁸ F-DCFPyL

注:DCFPyL 为 2-(3-(1-羧基-5-[(6-¹⁸F-氟-吡啶-3-羧基)-氨基]-戊基)-脲基)戊二酸,eDFHR 为大肠杆菌二氢叶酸还原酶,EGFR 为表皮生长因子受体,FEAU 为 2'-氟-5-乙基-B-D-阿拉伯呋喃基尿嘧啶,FHBG 为 9-[4-氟-3-(羟甲基)丁基]鸟嘌呤,FHPG 为 9-[(3-氟-1-羟基-2-丙氧基)甲基]鸟嘌呤,FIAU 为 1-(2-脱氧-2-氟-B-D-阿拉伯呋喃基)-5-碘尿嘧啶,FLT 为 3'-脱氧-3-氟胸苷,FMAU 为 2'-氟-5-甲基阿拉伯糖基尿嘧啶,hNIS 为钠碘转运蛋白,HSV1-tk 为单纯疱疹病毒 1 型胸苷激酶,PSMA 为前列腺特异膜抗原,TMP 为甲氧苄啶;-为暂无文献报道相关探针

目前在临床研究中单纯疱疹病毒 1 型胸苷激酶(herpes simplex virus 1-thymidine kinase, HSV1-tk)是使用最广泛的报告基因^[34]。Keu 等^[35]报道了 7 例脑胶质瘤患者接受同时表达 HSV1-tk 和白细胞介素 13(interleukin-13, IL-13)嵌合抗原受体的 CD8⁺细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)治疗后,利用特异性探针¹⁸F-9-[4-氟-3-(羟甲基)丁基]鸟嘌呤{9-[4-[¹⁸F] fluoro-3-(hydroxymethyl) butyl] guanine, ¹⁸F-FHBG}进行 PET 显像的研究。结果显示患者进行

CTLs 治疗后,在脑胶质瘤病灶处显像剂摄取增加具有统计学意义($P=0.014$),表明¹⁸F-FHBG 探针可以与 CTLs 中表达的 HSV1-tk 报告基因结合并进行 PET 显像。Sellmyer 等^[36]基于大肠杆菌二氢叶酸还原酶(*Escherichia coli* dihydrofolate reductase, eDFHR)开发并研究了¹⁸F-甲氧苄啶(trimethoprim, TMP)用于 PET 显像体内示踪 CAR-T,将表达 eDFHR 的抗双唾液酸神经节苷脂(disialoganglioside, GD2) CAR-T 注射进 GD2⁻和 GD2⁺肿瘤的荷瘤鼠模型中,第 7 天和第 13 天的 PET/CT 显像结果示 CAR-T 输注后,在脾中会有早期滞留,随后靶向分布到 GD2⁺肿瘤中,该结果也经放射自显影和免疫组织化学方法进一步验证;该研究同时发现肿瘤浸润性 CD8⁺ CAR-T 的检测灵敏度很高,可达每立方毫米约 11 000 个细胞,提示利用¹⁸F-TMP 监测转导 eDFHR 报告基因的 CAR-T 体内增殖可行。Minn 等^[37]用前列腺特异膜抗原(prostate-specific membrane antigen, PSMA)转导 CAR-T,并用 2-(3-(1-羧基-5-[(6-¹⁸F-氟-吡啶-3-羧基)-氨基]-戊基)-脲基)戊二酸{2-(3-(1-carboxy-5-[(6-¹⁸F-fluoro-pyridine-3-carbonyl)-amino]-pentyl)-ureido)-pentanedioic acid, ¹⁸F-DCFPyL}示踪 CAR-T,PET 显像最低可以检测到 2 000 个细胞/50 μl;最后,研究者在急性淋巴细胞白血病模型中进行 CAR-T 可视化研究,结果显示注射 CAR-T 治疗后早期(第 5 天)即可看到病灶的骨髓处 CAR-T 数量增加;第 11 天的光学成像发现病变处肿瘤细胞减少;第 12 天的 PET 显像显示外周血、骨髓和肿瘤处有明显放射性浓聚;最终体内的肿瘤细胞在 CAR-T 治疗后被全部清除。上述结果提示,报告基因成像有望实现 CAR-T 的分布、迁移和增殖等的监测,但由于报告基因作为一种细胞表面酶,无法将放射性探针浓聚于细胞内(即放大放射性信号),这在理论上限制了这一方案的灵敏度^[38]。

三、挑战与展望

CAR-T 疗法作为新型肿瘤免疫疗法,已取得相应突破性进展。但目前缺乏有效监测体内生物学行为的方法,这大大限制了其发展和应用。分子影像技术有望作为传统方法的有效补充,实现实时、全面、无创、定量、可视化地监控 CAR-T 在体内的分布、迁移和增殖等,并为 CAR-T 的药效评价和作用机制研究提供新技术和新方法。目前,已有一些分子影像研究在动物水平取得了相关突破,同时全球各种临床试验也在进行之中,但仍然面临着一些研究瓶颈。一方面,多模态成像已成为当下研究的热点,在临床前和临床研究中广泛应用。在应用多模态成像过程中,如何克服不同模态间的融合、强弱信号间的相互影响、成像光源稳定性等一系列问题,成为研究者们需要关注的问题。另一方面,需研发穿透力强、分辨率高、灵敏度高,能同时满足细胞体内分布、迁移和增殖监测的特异性分子探针以满足活体成像需求,并降低对正常组织和 CAR-T 的损伤。

伴随多模态显像方法和特异性探针的开发,结合成像仪器性能参数的不断优化,分子影像技术在 CAR-T 疗法中的应用会越来越深入和广泛,该方法有望作为无创工具应用于 CAR-T 药代动力学/药效动力学(pharmacokinetics/pharmacodynamics, PK/PD)建模和安全性及有效性评估中,助力 CAR-T 疗法的临床转化。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 吴琼: 论文撰写; 王燕: 论文修改; 杨敏: 研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

- [1] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [J]. *Science*, 2013, 342 (6165): 1432-1433. DOI: 10.1126/science.342.6165.1432.
- [2] Zhao Z, Chen Y, Francisco NM, et al. The application of CAR-T cell therapy in hematological malignancies: advantages and challenges [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8(4): 539-551. DOI: 10.1016/j.apsb.2018.03.001.
- [3] June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer [J]. *Science*, 2018, 359 (6382): 1361-1365. DOI: 10.1126/science.aar6711.
- [4] Bach PB, Giral SA, Saltz LB. FDA approval of tisagenlecleucel: promise and complexities of a \$ 475 000 cancer drug [J]. *JAMA*, 2017, 318 (19): 1861-1862. DOI: 10.1001/jama.2017.15218.
- [5] Bouchkouj N, Kasamon YL, de Claro RA, et al. FDA approval summary: axicabtagene ciloleucel for relapsed or refractory large B-cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25 (6): 1702-1708. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2743.
- [6] Holzinger A, Barden M, Abken H. The growing world of CAR T cell trials: a systematic review [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65 (12): 1433-1450. DOI: 10.1007/s00262-016-1895-5.
- [7] Cao J, Wang G, Cheng H, et al. Potent anti-leukemia activities of humanized CD19-targeted chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93 (7): 851-858. DOI: 10.1002/ajh.25108.
- [8] George P, Dasyam N, Giunti G, et al. Third-generation anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cells incorporating a TLR2 domain for relapsed or refractory B-cell lymphoma: a phase I clinical trial protocol (ENABLE) [J]. *BMJ Open*, 2020, 10 (2): e034629. DOI: 10.1136/bmjopen-2019-034629.
- [9] 韩笑, 叶春莹, 张常晓, 等. 人源化抗 CD19 嵌合抗原受体 T 细胞治疗急性 B 淋巴细胞白血病的临床研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27 (5): 1353-1359. DOI: 10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2019.05.001.
Han X, Ye CY, Zhang CX, et al. Clinical efficacy of humanized anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in the treatment of acute B lymphocytic leukemia [J]. *J Exp Hematol*. 2019, 27 (5): 1353-1359. DOI: 10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2019.05.001.
- [10] 左英熹, 贾月萍, 吴珺, 等. 嵌合抗原受体 T 细胞治疗儿童复发、难治急性 B 淋巴细胞白血病 48 例的长期疗效分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40 (4): 270-275. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.04.002.
Zuo YX, Jia YP, Wu J, et al. Chimeric antigen receptors T cells for treatment of 48 relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia children: long term follow-up outcomes [J]. *Chin J Hematol*, 2019, 40 (4): 270-275. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.04.002.
- [11] Li L, Liu J, Xu M, et al. Treatment response, survival, safety, and predictive factors to chimeric antigen receptor T cell therapy in Chinese relapsed or refractory B cell acute lymphoblast leukemia patients [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (3): 207. DOI: 10.1038/s41419-020-2388-1.
- [12] Morgan RA, Yang JC, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2 [J]. *Mol Ther*, 2010, 18 (4): 843-851. DOI: 10.1038/mt.2010.24.
- [13] Rooney C, Sauer T. Modeling cytokine release syndrome [J]. *Nat Med*, 2018, 24 (6): 705-706. DOI: 10.1038/s41591-018-0068-9.
- [14] Gauthier J, Turtle CJ. Insights into cytokine release syndrome and neurotoxicity after CD19-specific CAR-T cell therapy [J]. *Curr Res Transl Med*, 2018, 66 (2): 50-52. DOI: 10.1016/j.retram.2018.03.003.
- [15] 张人和, 韩双印. CAR-T 细胞治疗实体瘤中靶点选择的研究进展 [J]. *肿瘤学杂志*, 2019, 25 (11): 930-935. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.11.B001.
Zhang RH, Han SY. Research advances in target selection of CAR-T cells therapy for solid tumors [J]. *Chin J Oncol*, 2019, 25 (11): 930-935. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.11.B001.
- [16] Krebs S, Ponomarev V, Slovin S, et al. Imaging of CAR T-cells in cancer patients: paving the way to treatment monitoring and outcome prediction [J]. *J Nucl Med*, 2019, 60 (7): 879-881. DOI: 10.2967/jnumed.119.227561.
- [17] 尚文婷, 田捷. 多模态分子探针: 从基础研究到临床应用 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2017, 37 (11): 677-679. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.001.
Shang WT, Tian J. Multi-modality probe: from basic research to clinical application [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 37 (11): 677-679. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.001.
- [18] Liu K, Liu X, Peng Z, et al. Retargeted human avidin-CAR T cells for adoptive immunotherapy of EGFRv III expressing gliomas and their evaluation via optical imaging [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (27): 23735-23747. DOI: 10.18632/oncotarget.4362.
- [19] Rizzo S, Petrella F, Politi LS, et al. Molecular imaging of stem cells: *in vivo* tracking and clinical translation [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 1783841. DOI: 10.1155/2017/1783841.
- [20] Meseguer-Olmo L, Montellano AJ, Martínez T, et al. Intraarticular and intravenous administration of ^{99m}Tc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells (^{99m}Tc-AH-MSCS): *in vivo* imaging and biodistribution [J]. *Nucl Med Biol*, 2017, 46: 36-42. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2016.12.003.
- [21] Roca M, de Vries EF, Jamar F, et al. Guidelines for the labelling of leucocytes with ¹¹¹In-oxine. Inflammation/Infection Taskgroup of the European Association of Nuclear Medicine [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 37 (4): 835-841. DOI: 10.1007/s00259-010-1393-5.
- [22] Stanton SE, Eary JF, Marzbani EA, et al. Concurrent SPECT/PET-CT imaging as a method for tracking adoptively transferred T-cells *in vivo* [J]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 27. DOI: 10.1186/s40425-016-0131-3.
- [23] Emami-Shahri N, Foster J, Kashani R, et al. Clinically compliant spatial and temporal imaging of chimeric antigen receptor T-cells [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 1081. DOI: 10.1038/s41467-018-03524-1.
- [24] 万良荣, 刘建军, 李妍. 不同容积模型和重建方法对 ⁹⁹Tc^mO₄ SPECT/CT 显像定量分析的影响 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2018, 38 (9): 619-622. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.09.009.
Wang LR, Liu JJ, Li Y. Effect of sphere size and reconstruction method on ⁹⁹Tc^m-pertechnetate SPECT/CT imaging: a phantom study [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2018, 38 (9): 619-622.

- DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.09.009.
- [25] Galgano S, Viets Z, Fowler K, et al. Practical considerations for clinical PET/MR imaging[J]. PET Clin, 2018, 13(1): 97-112. DOI:10.1016/j.cpet.2017.09.002.
- [26] Charoenphun P, Meszaros LK, Chuamsaamarkkee K, et al. [⁸⁹Zr] oxinate4 for long-term *in vivo* cell tracking by positron emission tomography[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2015, 42(2): 278-287. DOI:10.1007/s00259-014-2945-x.
- [27] Bansal A, Pandey MK, Demirhan YE, et al. Novel ⁸⁹Zr cell labeling approach for PET-based cell trafficking studies[J]. EJNMMI Res, 2015, 5: 19. DOI:10.1186/s13550-015-0098-y.
- [28] Man F, Lim L, Volpe A, et al. *In vivo* PET tracking of ⁸⁹Zr-labeled vγ9δ2 T cells to mouse xenograft breast tumors activated with liposomal alendronate[J]. Mol Ther, 2019, 27(1): 219-229. DOI: 10.1016/j.yymthe.2018.10.006.
- [29] Weist MR, Starr R, Aguilar B, et al. PET of adoptively transferred chimeric antigen receptor T cells with ⁸⁹Zr-oxine[J]. J Nucl Med, 2018, 59(10): 1531-1537. DOI:10.2967/jnumed.117.206714.
- [30] Griessinger CM, Maurer A, Kesenheimer C, et al. ⁶⁴Cu antibody-targeting of the T-cell receptor and subsequent internalization enables *in vivo* tracking of lymphocytes by PET[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(4): 1161-1166. DOI:10.1073/pnas.1418391112.
- [31] Lewis CM, Graves SA, Hernandez R, et al. ⁵²Mn production for PET/MRI tracking of human stem cells expressing divalent metal transporter 1 (DMT1)[J]. Theranostics, 2015, 5(3): 227-239. DOI:10.7150/thno.10185.
- [32] 程思源, 洪浩, 朱小华. ⁸⁹Zr 正电子显像剂的制备及进展[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2017, 37(11): 733-737. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.016.
- Cheng SY, Hong H, Zhu XH. Recent progress of ⁸⁹Zr tracers for PET imaging[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2017, 37(11): 733-737. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.016.
- [33] Wang XY, Wang Y, Wu Q, et al. Feasibility study of ⁶⁸Ga-labeled CAR T cells for *in vivo* tracking using micro-positron emission tomography imaging[J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, In press. DOI:10.1038/s41401-020-00511-5.
- [34] Yaghoubi SS, Gambhir SS. PET imaging of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase (HSV1-tk) or mutant HSV1-sr39tk reporter gene expression in mice and humans using [¹⁸F]FHBG[J]. Nat Protoc, 2006, 1(6): 3069-3075. DOI:10.1038/nprot.2006.459.
- [35] Keu KV, Witney TH, Yaghoubi S, et al. Reporter gene imaging of targeted T cell immunotherapy in recurrent glioma[J]. Sci Transl Med, 2017, 9(373): eaag2196. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag2196.
- [36] Sellmyer MA, Richman SA, Lohith K, et al. Imaging CAR T cell trafficking with eDHFR as a PET reporter gene[J]. Mol Ther, 2020, 28(1): 42-51. DOI:10.1016/j.yymthe.2019.10.007.
- [37] Minn I, Huss DJ, Ahn HH, et al. Imaging CAR T cell therapy with PSMA-targeted positron emission tomography[J]. Sci Adv, 2019, 5(7): eaaw5096. DOI:10.1126/sciadv.aaw5096.
- [38] 王观筠, 于鹏, 宁静, 等. PSMA 配体 PET 显像在非前列腺肿瘤诊疗中的应用[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2020, 40(4): 243-246. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190722-00137.
- Wang GY, Yu P, Ning J, et al. Application of PSMA ligands PET imaging in the diagnosis and treatment of non-prostate tumors[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2020, 40(4): 243-246. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190722-00137.

(收稿日期:2020-10-26)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于投稿提供伦理委员会批准文件及受试对象知情同意书的通告

根据中华医学会杂志社的相关规定,当论文的主体是以人为研究对象时,作者应该说明其遵循的程序是否符合伦理审核委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制订的伦理学标准,并提供该委员会的批准文件(批准文号著录于论文中)及受试对象或其亲属的知情同意书;当论文主体以动物为研究对象时,需说明是否遵循了单位和国家有关实验动物管理和使用的规定,如获得审查批准,应提交实验动物伦理审查委员会审批文件和批准文号。

本刊编辑部