



安徽医科大学学报
Acta Universitatis Medicinalis Anhui
ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 靶向小鼠 S180 肉瘤 PD-1 受体探针的 PET/CT 显像研究
作者： 黄海峰，孙江南，邹欢，包涛，朱华，杨先腾，李姗姗
网络首发日期： 2026-03-10
引用格式： 黄海峰，孙江南，邹欢，包涛，朱华，杨先腾，李姗姗. 靶向小鼠 S180 肉瘤 PD-1 受体探针的 PET/CT 显像研究[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260309.1517.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

靶向小鼠 S180 肉瘤 PD-1 受体探针的 PET/CT 显像研究

黄海峰¹, 孙江南², 邹欢³, 包涛², 朱华⁴, 杨先腾¹, 李姗姗⁵

[贵州省人民医院¹骨科、⁵麻醉科, 贵阳 550002; ²遵义医科大学第一临床医学院, 遵义 563000; ³贵州省职工医院康复医学科, 贵阳 550025; ⁴北京大学肿瘤医院核医学部肿瘤发生与转化研究教育部重点实验室(北京), 放射性药物研究与评价重点实验室(国家药品监督管理局), 北京 100142]

摘要 目的 探讨构建程序性死亡受体-1 (PD-1) 分子探针, 微型正电子发射断层显像/计算机断层成像(Micro-PET/CT)无创显像小鼠 S180 肉瘤中 PD-1 蛋白的可行性。**方法** 通过 S180 肉瘤细胞注射成瘤方法建立转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤小鼠模型, 动物毒性试验验证 PD-1 抗体对小鼠各脏器的毒性, 免疫组织化学染色 (IHC) 验证 S180 肉瘤中 PD-1 蛋白的表达情况, 进一步合成 ¹²⁴I-anti-PD-1 单克隆抗体分子探针, 在转基因 PD-1 C57 小鼠尾静脉注射 18.5 MBq ¹²⁴I-anti-PD-1 探针并进行 S180 肉瘤的 Micro-PET/CT。**结果** 成功构建了转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤小鼠模型。IHC 显示 S180 肉瘤中存在 PD-1 蛋白的表达, Micro-PET/CT 在小鼠注射探针后不同的时间点 (20、48、72、120 h) 均能成功显像 S180 肉瘤中 PD-1 蛋白受体。**结论** ¹²⁴I-anti-PD-1 单克隆抗体分子探针可以成功靶向转基因 PD-1 C57 小鼠 S180 肉瘤的 PD-1 受体, 并呈现清晰的 Micro-PET/CT 免疫成像, 从而有望实现无创筛选 PD-1 阳性表达的恶性肿瘤患者的目的。

关键词 肉瘤; PD-1; PD-L1; Micro-PET/CT; 单克隆抗体; 分子探针

中图分类号 R738.6

文献标志码 A

PET/CT imaging of PD-1 receptor probe targeting S180 sarcoma in mice

Huang Haifeng¹, Sun Jiangnan², Zou Huan³, Bao Tao², Zhu Hua⁴, Yang Xianteng¹, Li Shanshan⁵
[¹Dept. of Orthopaedics, ⁵Dept. of Anesthesiology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002; ²The First Clinical Medical College, Zunyi Medical University, Zunyi 563000; ³Dept. of Rehabilitation, Guizhou Provincial Staff Hospital, Guiyang 550025; ⁴Key Laboratory for Research and Evaluation of Radiopharmaceuticals (National Medical Products Administration), Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research, Ministry of Education (Beijing), Department of Nuclear Medicine, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing 100142]

Abstract

Objective

基金项目: 贵州省科技计划项目 (编号: 黔科合基础-ZK (2021) 一般 471、黔科合基础-ZK (2024) 一般 481); 国家自然科学基金项目 (编号: 81960538)

作者简介: 黄海峰, 男, 博士, 副主任医师;
李姗姗, 女, 硕士, 主治医师, 通信作者, E-mail: 422389344@qq.com

To explore the feasibility of constructing a programmed death receptor-1 (PD-1) molecular probe for non-invasive micro-positron emission tomography/computed tomography (Micro-PET/CT) imaging of PD-1 protein in mouse S180 sarcoma. **Methods** A transgenic PD-1 C57 S180 sarcoma mouse model was established using the S180 sarcoma cell injection. Furthermore, ^{124}I -anti-PD-1 monoclonal antibody probe was synthesized. 18.5 MBq of the ^{124}I -anti-PD-1 probe was injected into the tail vein of transgenic PD-1 C57 mice. Subsequently, S180 sarcoma was imaged using Micro-PET/CT. **Results** Study successfully established a transgenic PD-1 C57 S180 sarcoma mouse model. Immunohistochemical (IHC) results showed PD-1 protein expression in S180 sarcoma. Micro-PET/CT imaging successfully visualized the PD-1 protein receptor in S180 sarcoma at different time points (20, 48, 72, and 120 h) after probe injection. **Conclusion** The ^{124}I -anti-PD-1 monoclonal antibody molecular probe successfully targets the PD-1 receptor in S180 sarcoma of transgenic PD-1 C57 mice, and presents clear Micro-PET/CT immunoassay results, thus it potentially enables the non-invasive screening of patients with PD-1 positive malignant tumors.

Key words Sarcoma; PD-1; PD-L1; Micro-PET/CT; monoclonal antibody; molecular probe

Fund programs Scientific and Technological Project of Guizhou Province (Nos. Qiankehe Basic ZK[2021]471, ZK[2024]481); National Natural Science Foundation of China (No. 81960538)

Corresponding author Shanshan Li, E-mail: 422389344@qq.com

程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 是一种免疫检查点分子, 通过和配体程序性死亡受体配体-1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 的结合来抑制 T 细胞的免疫功能。基于目前临床试验的巨大成功, 多种 PD-1 抗体和 PD-L1 抗体已被批准用于治疗各种类型的癌症^[1]。因此识别哪些患者群体可以从 PD-1 和 PD-L1 免疫检查点阻断疗法中获益至关重要, 这也是目前肿瘤临床工作中急需解决的问题^[2]。近年来, 已经报道了 ^{111}In ^[3]、 ^{64}Cu ^[4]和 ^{89}Zr ^[5] 相关的免疫成像探针, ^{111}In 半衰期约为 2.8 d, 但只能用于 SPECT 成像, 而 ^{64}Cu 的半衰期 (约 12.7 h) 比 ^{124}I 的半衰期 (约 4.2 d) 相对较短, 难以满足长时间观察的需要。 ^{89}Zr 的半衰期与 ^{124}I 相似, 两者均适用于 PD-1 抗体评估, 但由于 ^{89}Zr 的抗体标记需要双功能螯合剂, 关键的标记条件, 较长的孵育时间以及在某些情况下抗体的聚集使 ^{89}Zr 标记难度加大。因此, 开发一种靶向 PD-1 受体的长时间且标记简单新型探针显得颇为重要。

1 材料与方法

1.1 主要实验瘤株及实验动物 18~20 g KM 小鼠, 5~6 周龄, SPF 级, 雌性, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司); 18~20 g 人源化转基因 PD-1 C57 小鼠, 5~6 周龄, SPF 级, 雌性, 购自上海君实生物医药科技有限公司。

1.2 主要试剂 S180 鼠肉瘤细胞株购置于北京市中科质检生物技术有限公司; anti-PD-1 抗体和同位素 $^{124}\text{I-I}_2$ 由北京市北京大学肿瘤医院核医学科提供; PD-1 抗体购置于美国 Proteintech Group 公司; 山羊抗小鼠二抗购置于美国 Jackson Immuno Research 公司; DAB 显色试剂盒购置于北京市中杉金桥生物技术有限公司; EDTA (pH 8.0) 抗原修复液购置于武汉市赛维尔生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 Anti-PD-1 抗体毒性实验 anti-PD-1 组 (给药组) 及 PBS 组 (对照组) 各 4 只 KM 小鼠 (随机分组), 分别通过尾静脉注射 25 μg anti-PD-1 或同体积 PBS 到 KM 小鼠体内, 连续 4 周, 每周 2 次。每周临床观察 2 次, 动物称取体质量 2 次, 观察 31 d, 第 8 次给药后 6 d, 即 31 d 后处死小鼠, 取心脏、肝脏、脾脏、肺、肾脏、脑组织, 行 HE 染色; 组织学层面确定以上脏器有无损伤。所有动物均摘眼球取血, 分离血清后测定丙氨酸氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST), 肌酐 (creatinine, CREA) 及尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 水平, 进一步验证小鼠有无肝肾功能损害。

1.3.2 S180 肉瘤细胞株的培养及传代 取出培养基, 消毒放入安全柜, 取 10 mL 培养基移入 15 mL 离心管。待水浴箱温度稳定在 37 $^{\circ}\text{C}$, 从液氮罐中取出 S180 肉瘤细胞, 装进自封袋, 放进水浴箱, 快速摇晃使其融化。融化之后, 取出消毒, 开盖, 用 1 mL 枪将细胞移入 15 mL 管, 混匀后离心。离心后用 1 mL 培养基重悬, 液体移入培养瓶, 补充培养基, 放入 5% CO_2 的 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱行传代培养。

1.3.3 皮下荷瘤鼠动物模型的建立 以特制的肿瘤细胞接种器将 S180 肉瘤细胞移植到人源化转基因 PD-1 C57 小鼠右侧腋窝皮下, 待小鼠皮下荷瘤鼠肿瘤直径达到 0.8~1.0 cm 后再进行体内实验。所有动物实验均符合医院动物管理和使用委员会的相关指导方针 (贵州省人民医院伦理委员会批准号: 第 2020384 号)。

1.3.4 PD-1 受体蛋白的免疫组织化学染色 (immunohistochemistry, IHC) 取人源化转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤小鼠模型的肉瘤组织行 PD-1 受体蛋白的 IHC。组织石蜡切片脱蜡, 组织切片置于抗原修复缓冲液的修复盒中进行抗原修复, 放入 3% 双氧水溶液阻断内源性过氧化物酶, 在组化圈内滴加 3% BSA 封闭, 加一抗二抗, DAB 显色, 苏木精复染细胞核, 切片

脱水封片，显微镜下观察苏木精染细胞核为蓝色，棕黄色为阳性表达。

1.3.5 制备¹²⁴I-anti-PD-1单克隆分子探针 在1.5 mL EP管中依次加入10 μ L anti-PD-1 (20 mg/mL)、200 μ L磷酸缓冲液(0.1 mol/L、pH 7.0)溶液和250 μ L含74 MBq ¹²⁴I-I₂的溶液，然后加入10 μ L (1 mg/mL) N-溴代琥珀酰亚胺(N-Bromosuccinimide, NBS)反应60 s，后在其中加入200 μ L 10% 人血清白蛋白终止反应，最终产物经PD-10脱盐柱纯化。

1.3.6 转基因PD-1 C57小鼠S180肉瘤的微型正电子发射断层显像/计算机断层成像(micro positron emission tomography/ computed tomography, Micro-PET/CT) 通过喂食0.5% KI溶液阻断荷S180肉瘤的转基因PD-1 C57小鼠甲状腺对碘的摄取，时间点为注射单克隆分子探针前3 d。实验组4只荷瘤鼠的尾静脉分别注射18.5 MBq ¹²⁴I-anti-PD-1分子探针，并在注射后的不同时间点(注射探针后20、48、72、120 h)进行小动物PET/CT活体影像系统Micro-PET/CT[型号：西门子Inveon PET/CT；图像分辨率：1.4 mm；时间分辨率：1.5 ns；采集速度：0.3 s/帧]S180肉瘤PD-1免疫显像。设立阻断组，4只荷瘤鼠的尾静脉分别共注射18.5 MBq ¹²⁴I-anti-PD-1分子探针和500 μ g Anti-PD-1前体，并在注射后的不同时间点(注射探针后48、72 h)进行免疫显像。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism 5.0 软件作图，IBM SPSS 23.0 统计学软件进行数据的统计学分析，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，其中 KM 小鼠各指标变化情况、¹²⁴I-anti-PD-1 组和阻断组注射探针后 48、72 h 的 ROI (肿瘤/肌肉) 比值采用 *t* 检验，¹²⁴I-anti-PD-1 组分子探针注射后在不同时间点肿瘤与各器官的 SUV 比值采用单因素方差分析，*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Anti-PD-1单克隆抗体毒性检测

2.1.1 小鼠体质量变化 所有KM小鼠在给药期间精神状态良好，体质量均有一定程度的上升。首次给药当天记为D0，第8次给药后6 d，即D31，与anti-PD-1组相比，PBS组的体质量差异无统计学意义(*t*=1.017, *P*=0.356)。所有KM小鼠体质量变化趋势见图1。

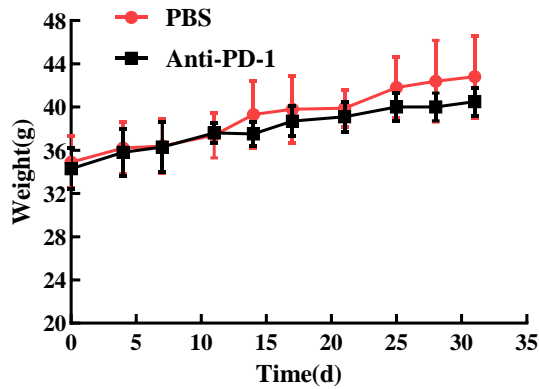


图1 给药后KM小鼠体质量变化趋势图

Fig.1 Trend of body weight change in KM mice after drug administration

2.1.2 S180 肉瘤细胞传代和 S180 肉瘤小鼠模型建立 倒置显微镜观察，小鼠 S180 肉瘤细胞形态学特征：细胞为典型的圆球形，细胞膜完整，细胞核比较大，胞浆丰富。原代 S180 细胞在培养板中生长 24 h 后，S180 细胞之间形成较密集的细胞团簇（图 2A、2B）。S180 细胞 HE 染色显示：细胞核被苏木精染成蓝色，伊红将细胞质染成粉红色，可见细胞呈典型的圆球形，且细胞核异质性明显(图 2C、2D)。最后，将传代后的小鼠 S180 肉瘤细胞，接种于人源化转基因 PD-1 C57 小鼠右侧腋下 (5×10^6 /只) 建立 S180 肉瘤小鼠模型。

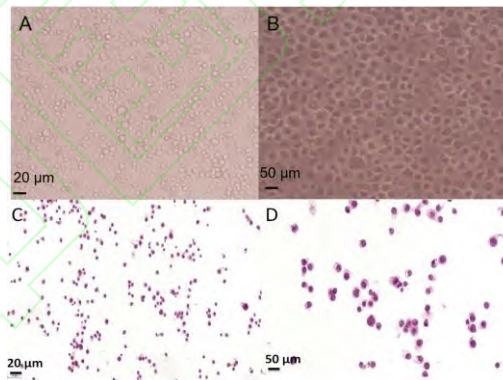


图2 S180 肉瘤细胞形态及 HE 染色

Fig.2 Morphology and HE staining images of S180 sarcoma cells

A, B: Morphology of primary mouse S180 sarcoma cells observed under an inverted microscope;

C, D: HE staining images of S180 sarcoma cells.

2.1.3 小鼠各组织 HE 染色结果 第 8 次给药后 6 d，即 D31，每组取 3 只 KM 小鼠的肝、脑、肺、肾、脾、心 6 个组织，HE 染色检测组织的病变情况。结果显示，PBS 组与 anti-PD-1 组均无明显病变，典型 HE 染色结果见图 3。其中，肝组织方面（图 3A、3B），两组肝细胞索排列整齐，肝小叶结构清晰，肝小窦结构正常，两组均未见炎性细胞浸润及肝细胞变性

坏死；脑组织方面（图 3C、3D）：两组神经元染色成椭圆形或圆形，排列规则致密，数量及基质均丰富，染色均匀；肺组织方面（图 3E、3F）：两组肺泡结构正常，大小均匀，两组均未见肉芽肿等增生，两组肺内均未见炎性细胞浸润及细胞变性坏死；肾组织方面（图 3G、3H），两组皮质内肾小球均匀分散，结构完整，细胞均未见明显病变，两组髓质内小管均未见明显病变；脾组织方面（图 3I、3J），两组脾脏红髓、白髓结构均清晰，脾索及血窦均分布均匀，淋巴细胞均排列有序，均无炎症、坏死或异常增生；心组织方面（图 3K、3L），两组心肌纤维均排列规则，间质无水肿及纤维化，均未见炎症、坏死或血栓形成。

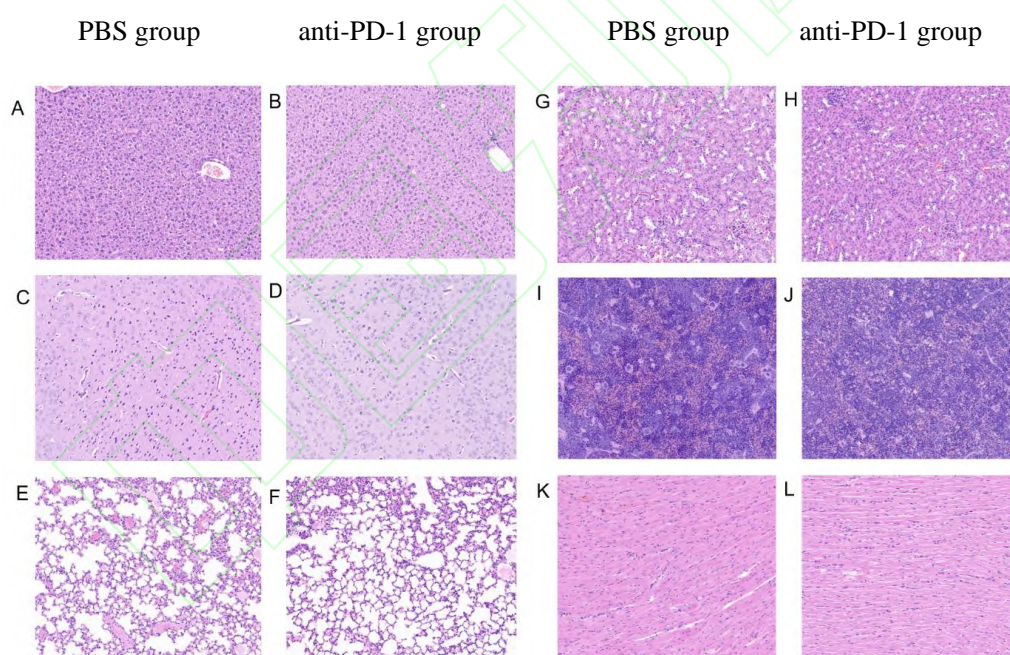


图 3 小鼠不同组织 HE 染色结果图 ×100

Fig.3 HE staining results of different tissues of mice ×100

A, B: liver; C, D: brain; E, F: lung; G, H: kidney; I, J: spleen; K, L: heart.

2.1.4 生化指标检测结果 第 8 次给药后 6 d，即 D31，分别取 PBS 组与 anti-PD-1 组 KM 小鼠眼球取血并分离血清，检测血清中 ALT、AST、CREA 及 BUN 的含量。结果显示，anti-PD-1 组中各指标与 PBS 组差异无统计学意义。见表 1。

表1 anti-PD-1 给药后 KM 小鼠各指标的变化情况 ($n=4, \bar{x} \pm s$)
Tab.1 Changes in multiple indicators of KM mice post anti-PD-1 Administration
 ($n=4, \bar{x} \pm s$)

Group	ALT (U/L)	AST (U/L)	CREA ($\mu\text{mol/L}$)	BUN (mmol/L)
PBS	56.2 \pm 17.7	242.2 \pm 165.6	15.6 \pm 1.0	4.0 \pm 0.5
anti-PD-1	59.2 \pm 12.8	219.7 \pm 76.6	16.9 \pm 2.7	4.2 \pm 0.0
<i>t</i> value	-0.254	0.215	-1.112	-0.745
<i>P</i> value	0.810	0.838	0.380	0.509

2.2 转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤 PD-1 的 IHC 染色 转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤小鼠模型成功构建 (图 4A), 进一步 IHC 证实 S180 肉瘤组织中的 PD-1 受体蛋白表达为阳性, 即 PD-1 受体 IHC 为棕色 (图 4G), 证实肉瘤组织存在 PD-1 受体的高表达。

2.3 PD-1 受体蛋白的 Micro-PET/CT 显像 在转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤小鼠尾静脉注射 18.5 MBq ^{124}I -anti-PD-1 单克隆分子探针 20 h 后开始进行 Micro-PET/CT 肿瘤显像。根据肿瘤成像, 可以看到在 S180 肉瘤部位没有明显的探针摄取, 肿瘤区域未出现明显显像, 分子探针主要聚集在小鼠的心脏中 (图 4B)。当 Micro-PET/CT 成像在注射后 48 h 时, 在 S180 肉瘤部位可以观察到明显的 ^{124}I -anti-PD-1 分子探针摄取 (图 4C), 72 h 时肿瘤区域已经出现清晰的成像 (图 4D)。探针注射 120 h 即 5 d 后, S180 肉瘤部位仍然存在明显的探针高摄取 (图 4E), 肿瘤部位成像清晰。S180 肉瘤小鼠注射 ^{124}I -anti-PD-1 探针后的靶/非靶的 SUV 比值随时间的延长而逐渐增加 (图 4F, $F_{\text{heart}}=165.869$, $F_{\text{liver}}=184.763$, $F_{\text{muscle}}=40.422$, $F_{\text{thyroid}}=87.918$, $F_{\text{brain}}=68.995$; 均 $P < 0.01$)。研究使用前体经典阻断 (共注射探针和前体) 作为对照, 在注射 18.5 MBq ^{124}I -anti-PD-1 (实验组)、18.5 MBq ^{124}I -anti-PD-1 和 500 μg Anti-PD-1 (阻断组) 探针后的 48、72 h 进行了免疫 PET 成像。阻断组肿瘤部位的 ^{124}I -anti-PD-1 探针摄取明显低于实验组的摄取 (图 4H、4I)。注射 ^{124}I -anti-PD-1 (实验组)、 ^{124}I -anti-PD-1 和 500 μg Anti-PD-1 (阻断组) 后, 实验组每个时间点的肿瘤/肌肉比值均高于阻断组 ($t_{48\text{ h}}=3.015$, $P < 0.05$; $t_{72\text{ h}}=4.632$, $P < 0.01$) (图 4J)。

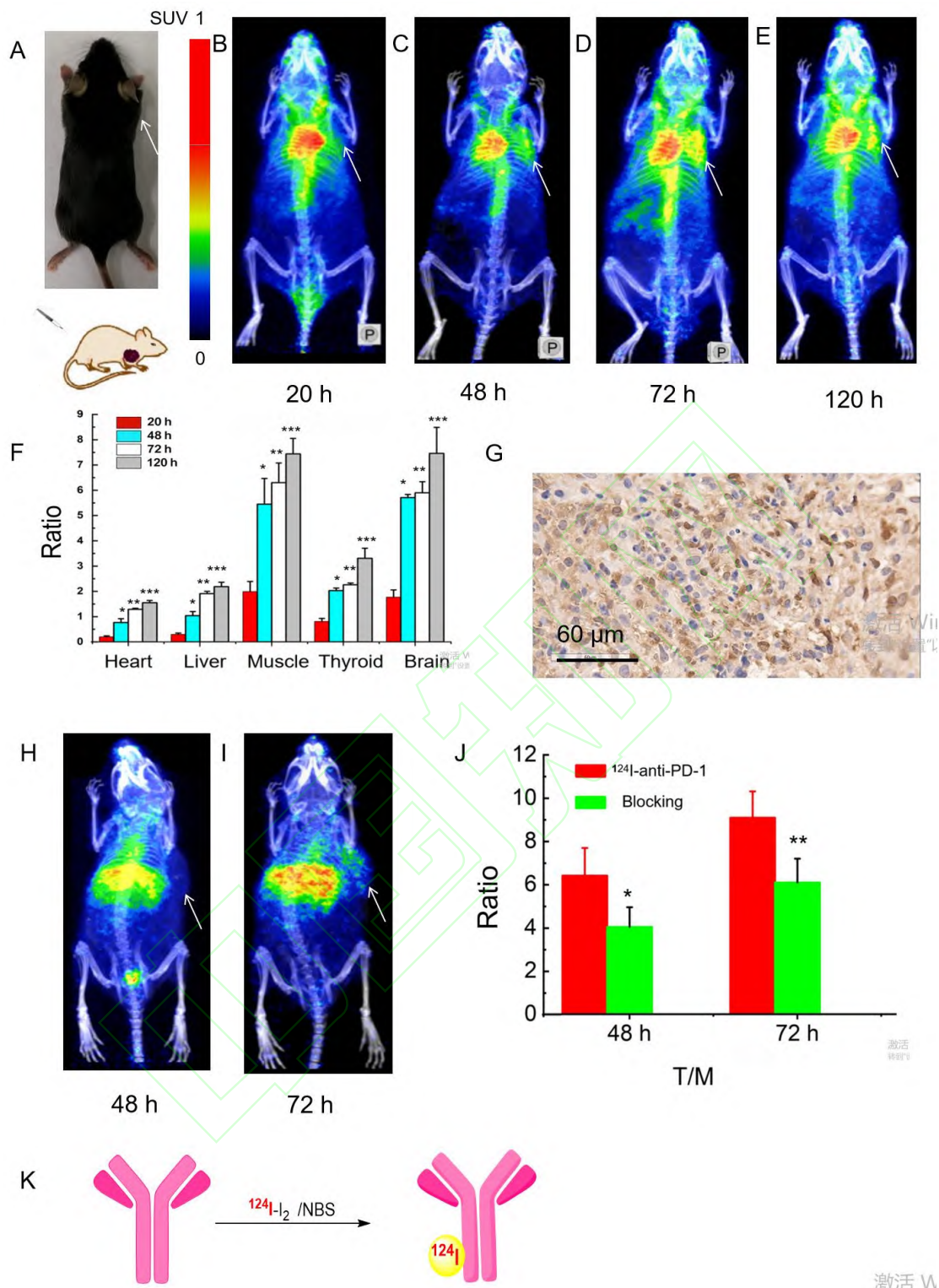


图 4 转基因 PD-1 C57 小鼠 S180 肉瘤的 Micro-PET/CT 显像及染色

Fig.4 Micro-PET/CT imaging and staining of S180 sarcoma in transgenic PD-1 C57 mice

A: Transgenic PD-1 C57 mouse model of S180 sarcoma (tumor located in the right axilla); B: Image of mouse collected 20 h after PD-1 molecular probe injection *via* tail vein (white arrow points to S180 sarcoma); C: Image of mouse collected 48 h after PD-1 molecular probe injection;

D: Image of mouse collected 72 h after PD-1 molecular probe injection; E: Image of mouse collected 120 h after PD-1 molecular probe injection;
F: SUV ratio of tumor to various organs at different time points after PD-1 molecular probe injection; * $P < 0.01$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.01$ vs 20 h; G: IHC staining of PD-1 receptor in S180 sarcoma tissue; H, I: Images of mice collected 48 h and 72 h after co-injection of 18.5 MBq ^{124}I -anti-PD-1 probe and 500 μg anti-PD-1 precursor in the blocking group; J: ROI (tumor/muscle) ratio 48 h and 72 h after probe injection in the ^{124}I -anti-PD-1 group and the blocking group; K: Schematic diagram showing the binding of ^{124}I -anti-PD-1 monoclonal antibody with molecular probe; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs ^{124}I -anti-PD-1 group.

3 讨论

本研究通过小鼠 S180 肉瘤细胞成功构建了转基因 PD-1 C57 S180 肉瘤小鼠模型，并通过 Anti-PD-1 抗体毒性实验验证了该单克隆抗体对 KM 小鼠无明显毒性，进一步 IHC 实验验证了 PD-1 受体蛋白在 S180 肉瘤组织中的高表达，并为之后的 Micro-PET/CT 成像准备了可靠的动物模型。S180 肉瘤小鼠通过尾静脉注射 ^{124}I -anti-PD-1 单克隆抗体分子探针 48 h 后，肿瘤成像较为清晰，同时肿瘤部位的 ^{124}I -anti-PD-1 分子探针摄取能被前体所阻断，实验组在注射探针后 5 d 后免疫显像依旧清晰，实现了对恶性肿瘤的 PD-1 受体的长时间无创实时监测，为 PD-1/PD-L1 信号通路的无创筛查提供了新的探针。另外， ^{124}I 标记方法是原位标记，不需要双功能螯合剂，PD-1 分子探针标记简单方便，更易获得临床推广，本实验研究证实新型 ^{124}I -anti-PD-1 单克隆抗体分子探针成像效果显著，免疫显像时间长，有望在临床获得进一步推广。

癌细胞上的 PD-L1 与免疫细胞上的 PD-1 相互作用，从而参与癌症的免疫逃逸。对于多种癌症类型而言，PD-1/PD-L1 轴是抗癌免疫反应的主要限速步骤。阻断 PD-1/PD-L1 可以恢复 T 细胞衰竭状态并清除癌细胞，然而，只有一小部分 PD-1/PD-L1 受体阳性患者能够从 α -PD-1/PD-L1 免疫疗法中获益^[6]，这可能与部分患者体内 PD-1/PD-L1 受体蛋白表达量少有关。同时也有研究指出抗 PD-1/PD-L1 与免疫调节药物[例如 C-X-C 趋化因子受体 4 型 (CXCR4)、聚 ADP-核糖聚合酶 (PARP) 或转化生长因子 (TGF)- β 抑制剂]的联合应用有着显著的临床效果^[7]。

在骨和软组织恶性肿瘤中，临床上主要以肉瘤多见。软组织肉瘤是指由包括血管、肌肉、肌腱、皮下组织、结缔组织间隙以及空腔器官支柱基质等来源的恶性肿瘤。Kim et al^[8]学者

证实 PD-L1 受体存在于多种软组织肉瘤中，而 PD-1 受体则是主要表达在肿瘤浸润的淋巴细胞中，他们研究指出 PD-1 受体表达情况可作为肉瘤新的预后指标。近几十年来，免疫疗法已经完全改变了恶性肿瘤患者的常规治疗相关标准。例如，免疫治疗方法如免疫检查点阻断被广泛的用于恶性肿瘤的免疫治疗，这种方法可能单独或与化放疗联用^[9]。PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 检查点抑制剂等免疫疗法显示出了良好的抗肿瘤活性，加速了部分恶性肿瘤免疫治疗发展进程。如在小细胞肺癌（small cell lung cancer, SCLC）中，它具有高突变负荷，高免疫原性和具备部分对免疫治疗有利的免疫因子。因此，上述抑制剂可能成为 SCLC 治疗上的重要突破^[10]。另外，PD-1 抑制剂（帕博利珠单抗和纳武利尤单抗）已被批准用于治疗无法切除的转移性黑色素瘤患者，并已被证实可提高患者总的生存期^[11]。可见，PD-1/PD-L1 信号通路在恶性肿瘤的免疫治疗中至关重要。本研究通过无创的方法检测恶性肿瘤中 PD-1 受体的表达，可以极大地提高 PD-1 免疫治疗的疗效，可能改变恶性肿瘤患者的常规治疗方式。

本团队既往研究^[12]已经证实，PD-L1 的非侵入性成像可以无创筛查 PD-L1 受体蛋白表达阳性的恶性肿瘤，该方法有望提高恶性肿瘤患者对 PD-L1 免疫治疗的反应率。本研究进一步证实了 ¹²⁴I-anti-PD-1 单克隆分子探针可以靶向恶性肿瘤中 PD-1 受体蛋白。

综上所述，PD-1/PD-L1 轴作为 T 细胞免疫逃逸的关键信号通路，无创地检测及评估该通路上下游表达水平对恶性肿瘤的免疫治疗疗效有着重大价值。该研究制备的新型单克隆分子探针 ¹²⁴I-anti-PD-1 获取简单，动物实验证实该探针未表现体内明显毒性，可以特异性靶向小鼠 S180 肉瘤中 PD-1 受体蛋白，研究实现了时间长达 120 h 清晰的肿瘤免疫显像，且显像效果明显优于阻断组。研究成果有望为筛选 PD-1 阳性表达的恶性肿瘤患者提供新的思路 and 策略。

参考文献

- [1] Yi M, Zheng X, Niu M, et al. Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 28. [oi:10.1186/s12943-021-01489-2](https://doi.org/10.1186/s12943-021-01489-2).
- [2] Song Y, Li Z, Xue W, et al. Predictive biomarkers for PD-1 and PD-L1 immune checkpoint blockade therapy[J]. *Immunotherapy*, 2019, 11(6): 515-29. [doi:10.2217/imt-2018-0173](https://doi.org/10.2217/imt-2018-0173).
- [3] Privat M, Massot A, Hermetet F, et al. Development of an immuno-SPECT/fluorescent bimodal tracer targeting human or murine PD-L1 on preclinical models[J]. *J Med Chem*, 2024, 67(3): 2188-201. [doi:10.1021/acs.jmedchem.3c02120](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c02120).

- [4] Luo H, Yang C, Kuang D, et al. Visualizing dynamic changes in PD-L1 expression in non-small cell lung carcinoma with radiolabeled recombinant human PD-1[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 49(8): 2735-45. doi:10.1007/s00259-022-05680-5.
- [5] Kelly M P, Makonnen S, Hickey C, et al. Preclinical PET imaging with the novel human antibody (89)Zr-DFO-REGN3504 sensitively detects PD-L1 expression in tumors and normal tissues[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(1): e002025. doi:10.1136/jitc-2020-002025.
- [6] Yi M, Niu M, Xu L, et al. Regulation of PD-L1 expression in the tumor microenvironment[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 10. doi:10.1186/s13045-020-01027-5.
- [7] Majidpoor J, Mortezaee K. The efficacy of PD-1/PD-L1 blockade in cold cancers and future perspectives[J]. *Clin Immunol*, 2021, 226: 108707. doi:10.1016/j.clim.2021.108707.
- [8] Kim J R, Moon Y J, Kwon K S, et al. Tumor infiltrating PD1-positive lymphocytes and the expression of PD-L1 predict poor prognosis of soft tissue sarcomas[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82870. doi:10.1371/journal.pone.0082870.
- [9] Wirsdörfer F, de Leve S, Jendrossek V. Combining radiotherapy and immunotherapy in lung cancer: can we expect limitations due to altered normal tissue toxicity [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 24. doi:10.3390/ijms20010024.
- [10] 于 涛, 钟殿胜. 小细胞肺癌免疫治疗研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2018, 21(12): 918-23. doi:10.3779/j.issn.1009-3419.2018.12.10.
- [10] Yu T, Zhong D S. Clinical development of immunotherapy for small cell lung cancer[J]. *Chin J Lung Cancer*, 2018, 21(12): 918-23. doi:10.3779/j.issn.1009-3419.2018.12.10.
- [11] Ribas A, Hamid O, Daud A, et al. Association of pembrolizumab with tumor response and survival among patients with advanced melanoma[J]. *JAMA*, 2016, 315(15): 1600-9. doi:10.1001/jama.2016.4059.
- [12] 黄海峰, 邹 欢, 王 炼, 等. 靶向骨肉瘤 PD-1/PD-L1 信号通路探针的实验研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(11): 1823-7. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.11.004
- [12] Huang H F, Zou H, Wang L, et al. Experimental study on PD-1/PD-L1 signal pathway probe targeting osteosarcoma[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(11): 1823-7. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.11.004