

## · 基础研究 ·

# <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 用于结肠癌 PD-1 表达相关诊疗一体化的初步研究

李丹妮<sup>1,2</sup> 任胜男<sup>2</sup> 苏维维<sup>2</sup> 彭焯<sup>2</sup> 李潇<sup>2</sup> 左长京<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徐州医科大学医学影像学院 221004; <sup>2</sup>上海长海医院核医学科 200433

通信作者: 左长京, Email: [cjzuo@smmu.edu.cn](mailto:cjzuo@smmu.edu.cn)

**【摘要】目的** 研制靶向程序性死亡受体 1(PD-1)的<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 诊疗剂, 并研究其在高表达 PD-1 的原位结肠癌小鼠模型中的初步应用。**方法** 采用间接标记法制备<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab, 测量产物的放射化学纯度及评估体外稳定性。PD-1 高表达原位结肠癌小鼠 10 只, 随机分成治疗组和对照组。治疗组尾静脉注射<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab(11.1 MBq/10 μg)后, 通过 SPECT/CT 观察在给药后不同时间点(2、4、24、65 h)诊疗剂在小鼠体内的分布情况。治疗 5 d 后, 采用免疫组织化学法量化治疗组肿瘤组织中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达。**结果** <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 放射化学纯度>99%, 24 h 的体外稳定性>90%。<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 主要分布于心脏、肝脏及肠道肿瘤, 通过肾脏代谢清除, 给药后 2 h, 肿瘤组织摄取<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 逐渐增加, 给药后 4 h 可见肝脏显影, 给药后 24 h 肠道疑似肿瘤区显影清晰, 给药后 65 h 肝脏非特异性摄取几乎被排出; 给药后 4、24、65 h 肠道疑似肿瘤区放射性计数与全身总放射性计数的比值分别为(2.8±0.3)%、(8.4±0.2)%和(1.8±0.5)%。治疗组比未治疗组的 Bax 蛋白表达率明显增高 [(22.23±1.61)% vs. (13.64±2.43)%,  $t=-5.476$ ,  $P=0.006$ ], 治疗组比未治疗组的 Bcl-2 蛋白表达率明显降低 [(13.81±4.64)% vs. (25.57±2.33)%,  $t=3.902$ ,  $P=0.017$ ]。**结论** 成功合成靶向 PD-1 的<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 诊疗剂, 其可作为结肠癌 SPECT 显像及内照射的诊治试剂, 为实现诊疗一体化提供了依据。

**【关键词】** 碘放射性同位素; 结肠肿瘤; 单光子发射计算机断层摄影术; 程序性死亡受体 1; 内照射治疗; 纳武单抗

**基金项目:** 国家自然科学基金(81471714、81871390); 国家自然科学基金青年科学基金(81701761)

DOI: [10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.008](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.008)

## Preliminary study of <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab for PD-1-related theranostics of colon cancer

Li Danni<sup>1,2</sup>, Ren Shengnan<sup>2</sup>, Su Weiwei<sup>2</sup>, Peng Ye<sup>2</sup>, Li Xiao<sup>2</sup>, Zuo Changjing<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>School of Medical Imaging, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; <sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Shanghai Changhai Hospital, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Zuo Changjing, Email: [cjzuo@smmu.edu.cn](mailto:cjzuo@smmu.edu.cn)

**【Abstract】Objective** We synthesized theranostic agent <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab, which targets programmed cell death-1 (PD-1), and studied its preliminary application in the mouse model with orthotopic colon cancer and high PD-1 expression. **Methods** <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab was prepared through indirect labeling, and the radiochemical purity and stability of products were evaluated. Ten mice with high expression of PD-1 colon neoplasm in situ were randomly categorized into the treatment and untreated groups. In the treatment group, <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab (11.1 MBq/10 μg) was injected into the tail vein, and SPECT/CT was then performed to observe the distribution of the theranostic agent in mice at different time points (2, 4, 24, and 65 h) after injection. After 5 days of treatment, the expression of Bax and Bcl-2 proteins in tumor tissues were quantified by immunohistochemistry. **Results** <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab had radiochemical purity greater than 99% and in vitro stability greater than 90% for 24 h. The theranostic agent was mainly distributed in the heart,

liver, and intestinal tumors, and was eliminated by renal metabolism, and its uptake by the tumor tissue increased gradually at 2 h post-injection. The liver was visualized at 4 h post-injection, and the suspected tumor area of the intestine was clear at 24 h post-injection. Liver non-specific uptake was almost eliminated at 65 h post-injection. The ratios of radioactivity counts in the intestinal suspected tumor area to the whole-body radioactivity counts at 4, 24, and 65 h post-administration were (2.8±0.3)%, (8.4±0.2)%, and (1.8±0.5)%, respectively. The treatment group had significantly higher expression rate of Bax protein [(22.23±1.61)% vs. (13.64±2.43)%,  $t=-5.476$ ,  $P=0.006$ ] but significantly lower expression rate of Bcl-2 protein [(13.81±4.64)% vs. (25.57±2.33)%,  $t=3.902$ ,  $P=0.017$ ] compared with the untreated group. **Conclusion**  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab targeting PD-1 was successfully synthesized and can be used as a theranostic agent for SPECT imaging and internal irradiation therapy. This method could provide a new idea for the theranostics of colon cancer.

**【Key words】** Iodine radioisotopes; Colon neoplasms; Single photon emission computed tomography computed tomography; Programmed cell death-1; Internal irradiation therapy; Nivolumab

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81471714, 81871390); National Natural Science Foundation Youth Project (81701761)

DOI: [10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.008](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.06.008)

结直肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一，大多数结直肠癌患者就诊时已属中晚期。结肠癌局部转移相对频繁，肿瘤可穿透肠壁并使区域淋巴结受累<sup>[1-3]</sup>。中晚期结直肠癌的标准治疗模式以直肠癌根治术为基础，辅以放疗。放疗通过破坏DNA将肿瘤杀灭，可以提高结直肠癌的局部控制率，增加保肛机率，提高患者生存率及生活质量，但仍存在辐射剂量高、对健康组织损伤较大等缺点。具有高度选择性的内照射治疗(selective internal radiotherapy, SIRT)可以降低局部复发率，使肿瘤缩小，减少癌周浸润，同时可以降低放疗所致的生物毒性，减轻放疗引发的不良反应。

由于阻断T细胞免疫检查点程序性死亡受体1(programmed death receptor, PD-1)/程序性死亡受体配体1(programmed death receptor-ligand 1, PD-L1)通路的免疫疗法具有高度特异性，因此其在癌症免疫治疗中的重要性被广泛认可<sup>[4]</sup>。有研究结果证实，结肠癌周间质主要由大量T淋巴细胞浸润<sup>[5]</sup>，所以结直肠癌也成为PD-1/PD-L1治疗的重要应用方向之一。由于PD-1与PD-L1的高度相关性，靶向PD-1的诊疗一体化核素标记的单克隆抗体可用于PD-1表达的评估，同时SIRT作用于T细胞浸润的肿瘤组织有望成为PD-1/PD-L1免疫疗法的有效补充。

本研究拟合成一种PD-1抗体导向的免疫放疗诊疗剂。在SIRT的同时， $^{131}\text{I}$ 释放的 $\gamma$ 射线可用

于SPECT评估PD-1的表达，成为PD-1相关SIRT的诊疗一体化试剂。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物与试剂

10只SPF级PD-1高表达小鼠(品系全称: C57BL/6J-Pdcd1<sup>em1(hPDCD1)/Smoc</sup>)，雌性，6周龄，体重18~22g，购自上海南方模式生物科技股份有限公司，实验动物许可证号: SYXK(沪)2018-0002。氧化偶氮甲烷、羟苯基丙酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯(Bolton-Hunter, BH试剂)、二甲基亚砜、Iodogen(1,3,4,6-四氯-3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -二苯基甘脲)购自美国Sigma公司，葡萄糖硫酸钠购自上海翊圣生物科技有限公司，Nivolumab抗体(5mg/mL)购自美国Selleck公司，核素 $^{131}\text{I}$ 购自上海欣科医药有限公司。

### 1.2 动物模型的制备

参照文献[6]的方法，先在小鼠腹腔单次注射氧化偶氮甲烷(10mg/kg)，7d后喂食2%葡萄糖硫酸钠溶液4d，之后继续喂食纯净水17d，此为1个周期。以上步骤重复3个周期后，改为普通饮食喂养，模型制备至130d。将小鼠随机分成治疗组和对照组，每组各5只，两组之间体重的差异无统计学意义( $t=-0.472$ ,  $P=0.649$ )将部分小鼠处死解剖，肉眼观察腹腔肠道组织有无肿瘤灶，通过苏木精-伊红染色及PD-1免疫组织化学染色验证动物模型制备是否成功。

### 1.3 碘-<sup>131</sup>I 化酪氨酸标记 Nivolumab (<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab) 的制备

<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 的制备采用间接标记法。将 1 μg BH 试剂溶于 1 μL 二甲基亚砜后与 111 MBq Na<sup>131</sup>I (10 μL) 分别加入涂有 80 μg Iodogen 的试管中混合反应 15 min。之后将反应体系(无催化剂)与 10 μg Nivolumab 继续反应 1 h, 具体标记流程见图 1。

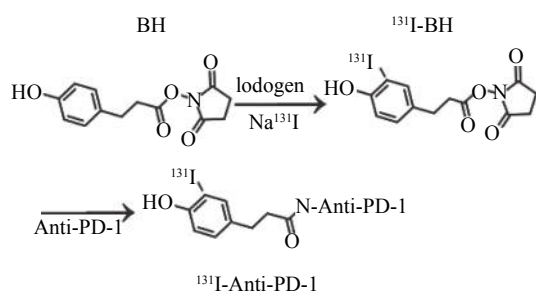


图 1 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 制备流程 图中, Iodogen: 1,3,4,6-四氯-3,6-二苯基甘脒; Anti-PD-1: PD-1 抗体。

Fig. 1 Preparation of <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab

采用 PD-10(内含物为 Sephadex G-25)柱分离标记产物, 先用 0.01 mol/L pH = 7.4 的 PBS 平衡, 然后洗脱, 每 10 滴收集一管, 共收集 40 管。使用放射性活度计依次测定每管的放射性活度, 第一峰为 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab, 第二峰为含放射性的杂质(主要成分为游离 <sup>131</sup>I 及 <sup>131</sup>I-羟苯基丙酸-N-羧基琥珀酰亚胺酯)。收集第一峰的 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab, 通过其与全部放射峰之和的比值计算标记率。

进一步测量产物的放射化学纯度, 将 Whatman 色谱纸制成 10 cm×1 cm 的色谱纸作为固定相, 并使用生理盐水作为流动相。将色谱纸等分成 10 段, 将 5 μL 第一峰对应样品在距端点 1 cm 处点样后晾干, 置于流动相中。待展开前沿距末端约 5 mm 处时, 取出晾干后沿线剪开, 放入试管中编号, 用 γ 计数器分别检测相应的每分钟计数值, 近原点处(R<sub>f</sub> = 0)为标记蛋白峰。在室温下, 将 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 分别与 0.01 mol/L PBS 和 1% 的胎牛血清共同孵育 2、4、8、12、24、48 h, 以评估放射性标记 Nivolumab 的体外稳定性。

### 1.4 原位结肠癌小鼠模型的 SPECT/CT 显像

在治疗组小鼠尾静脉注射含有约 11.1 MBq/10 μg 的 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab。在 SPECT/CT 成像的每个时间点前, 将 50 μL 3% 利多卡因注射到小鼠的腹腔中进行麻醉。在注射后的不同时间点(2、4、24、

65 h), 用 SPECT/CT(Symbia T16, 德国西门子公司)进行扫描, 观察不同时间点诊疗剂的分布及清除情况。高能准直器成像采集参数如下, 采集矩阵: 128×128; 变焦: 2.67; 能峰: 364 keV; 窗宽: 20%; 帧数: 60 s/帧; 总共采集 32 帧。CT 扫描采集参数如下, 管电压: 130 kV; 管电流: 35 mA; 间距: 1.0; 重建层厚度: 1 mm。对于每个 SPECT 扫描, 在经衰减校正后的图像上绘制肠道肿瘤的 ROI, 评估全身及肿瘤组织的放射性计数。

### 1.5 病理及免疫组织化学检测

给药 120 h 后, 将所有小鼠脱颈处死, 根据 SPECT/CT 探测的 PD-1 高表达范围, 并结合肉眼所见切取肿瘤组织。用 4% 多聚甲醛溶液固定肿瘤组织, 常规脱水, 石蜡包埋, 切片后苏木精-伊红染色, 在光学显微镜下进行组织学观察。将切片交至上海基尔顿生物科技有限公司, 采样分析样本相关部位, 评估肿瘤组织 SIRT 凋亡相关的 Bax、Bcl-2 蛋白表达的改变, 与未进行相应治疗的对照组的对应参数进行对比。Bax 及 Bcl-2 染色阳性的肿瘤细胞胞浆内有棕黄色或深棕色颗粒, 每张切片随机选取 3 个高倍镜视野(×200), 计数黄染细胞, 分别计算 Bax 及 Bcl-2 阳性细胞占总细胞数的比例以评估蛋白表达量。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 方差齐的组间数据比较采用配对样本 *t* 检验。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

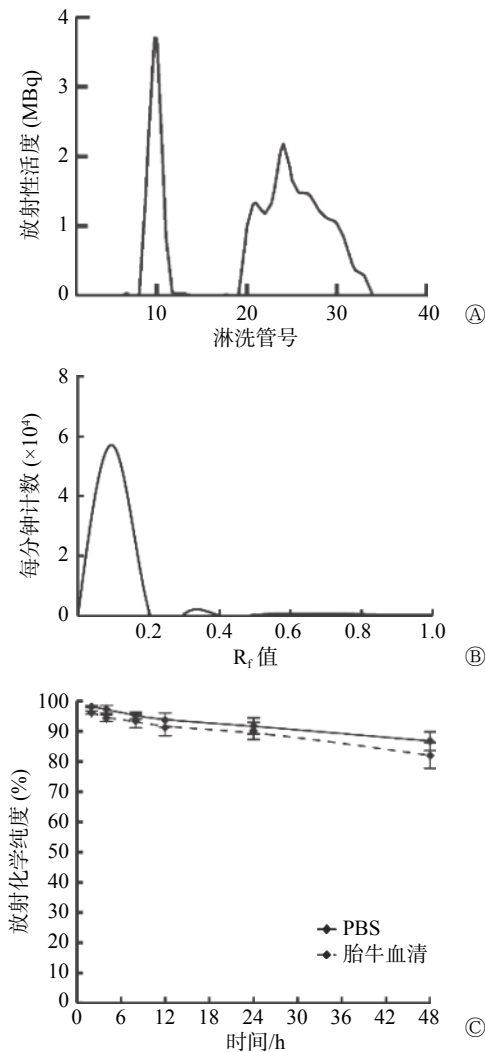
## 2 结果

### 2.1 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 的合成与鉴定

<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 经 PD-10 柱分离纯化的洗脱曲线见图 2 中 A。<sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 的标记率为 (30.13±5.36)%。分离后第一峰产品的放射化学纯度 > 99%(图 2 中 B)。在 37 °C 环境下, <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 在 0.01 mol/L PBS 和 1% 胎牛血清中的 24 h 稳定性 > 90%(图 2 中 C)。

### 2.2 <sup>131</sup>I-Tyr-Nivolumab 在原位结肠癌小鼠体内的分布

原位结肠癌小鼠解剖后肉眼可见部分肠道组织充血水肿, 部分可见黄豆大小的结节。小鼠肠道肿瘤组织切片, 在显微镜下可见核深染色异形细胞,

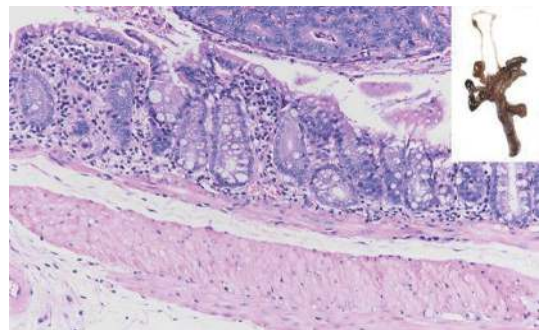


**图 2**  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 纯化及稳定性检测 图中, A:  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 淋洗曲线; B:  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 在 NaCl 溶液/纸层析体系展开后, 经  $\gamma$  计数器检测结果的拟合图; C:  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 在 PBS 及血清的稳定性。  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab: 碘-131 化酪氨酸标记的纳武单抗; PBS: 磷酸缓冲盐溶液。

**Fig. 2** Purification and radiolabeling stability of  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab

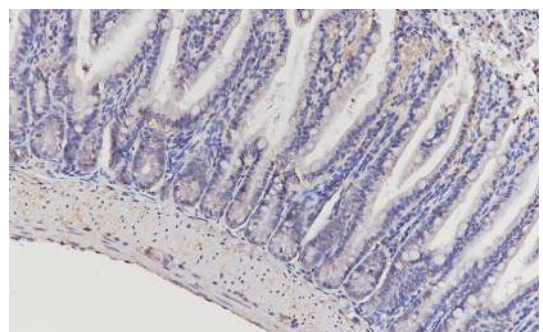
核仁明显(图 3)。免疫组织化学法评估 PD-1 表达量为  $(19.58 \pm 3.23)\%$ (图 4)。证明小鼠原位结肠癌模型制备成功。

在小鼠尾静脉注射  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 后不同时间点(2、4、24、65 h)进行的 SPECT 扫描显示,  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 主要分布在心脏、肝脏及肠道肿瘤区域。随着显像时间的延长, 肝脏等非靶器官的放射性摄取逐渐下降, 肿瘤组织显影逐渐清晰。给药后 2 h, 肿瘤组织摄取  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 逐渐增加。4 h 可见肝脏显影, 肠道疑似肿瘤区放射性计数与全身总放射性计数比为  $(2.8 \pm 0.3)\%$ , 给药后 24 h 肠道疑似肿瘤区显影清晰, 疑似肿瘤区



**图 3** 小鼠肠道解剖及病理图(苏木精-伊红染色,  $\times 200$ )

**Fig. 3** Histopathology and anatomy of mouse intestinal tumor tissue



**图 4** 结肠癌小鼠肠道肿瘤程序性死亡受体 1 阳性表达(免疫组织化学,  $\times 200$ ), 肿瘤细胞表面可见棕黄色染色。

**Fig. 4** PD-1 positive expression in colon cancer mouse intestinal tumors

域与全身放射性计数比为  $(8.4 \pm 0.2)\%$ (图 5)。注射药物后 65 h, 肝脏非特异性摄取几乎被排出, 肠道疑似肿瘤区域与全身放射性计数比为  $(1.8 \pm 0.5)\%$ 。证明 PD-1 抗体可较长时间在靶点维持高浓度, 即保持较为长效的内照射作用。

### 2.3 内照射疗效

Bax 及 Bcl-2 染色阳性的肿瘤细胞表现为胞浆内黄染颗粒(图 6)。未治疗组 Bax 的表达率为  $(13.64 \pm 2.43)\%$ , 治疗组为  $(22.23 \pm 1.61)\%$ , 两组之间的差异有统计学意义( $t = -5.476, P = 0.006$ ); 未治疗组 Bcl-2 蛋白的阳性表达率为  $(25.57 \pm 2.33)\%$ , 治疗组为  $(13.81 \pm 4.64)\%$ , 较未治疗组明显降低, 且差异有统计学意义( $t = 3.902, P = 0.017$ )。

### 3 讨论

目前, 国外多数研究将 PD-1 抗体类物质的核素标记应用于核医学诊断及体内分析。例如, Natarajan 等<sup>[7]</sup> 基于抗体药物 Pembrolizumab 建立的抗 PD-1 免疫 PET 示踪剂, 分别用锆-89( $^{89}\text{Zr}$ ) 和

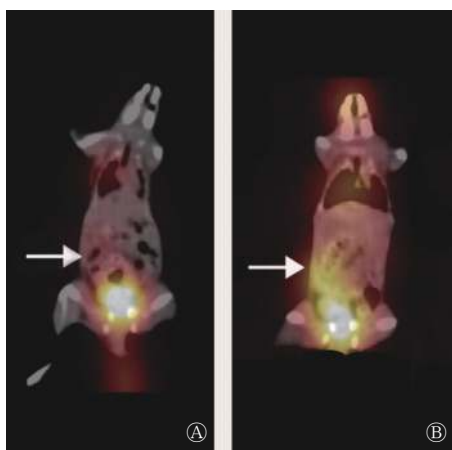


图5  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 给药后 4 h(A) 和 24 h(B) 结肠癌小鼠体内放射性分布 SPECT/CT 显像图 图中, 箭头示肿瘤。

Fig. 5 SPECT/CT image of radioactivity distribution of  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab in colon cancer mice 4 hours and 24 hours post injection

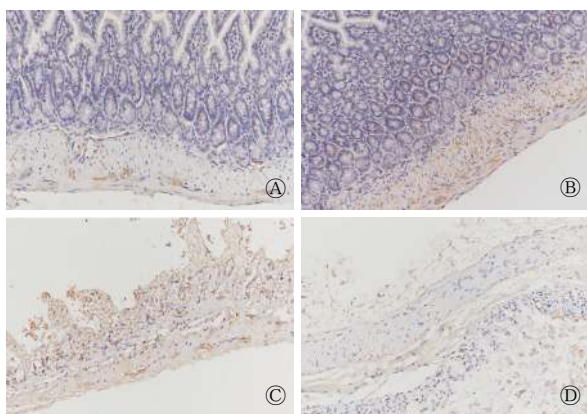


图6 结肠癌小鼠治疗前后肿瘤组织免疫组化结果 图中, A: 未治疗组 Bax 表达; B: 未治疗组 Bcl-2 表达; C: 治疗组 Bax 表达; D: 治疗组 Bcl-2 表达 (免疫组织化学,  $\times 200$ )

Fig. 6 Immunohistochemical results of tumor tissues in colon cancer mice before and after treatment

铜-64( $^{64}\text{Cu}$ ) 标记, 实现了对人肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)上的 PD-1 表达的特异性成像。England 等<sup>[8]</sup> 用 $^{89}\text{Zr}$ -Df-Nivolumab PET 有效地显示出表达 PD-1 的 T 细胞, 以深入了解被各种疗法激活的 T 细胞转归和肿瘤驻留之间的相互作用, 对于深入研究肿瘤免疫治疗过程中微环境的改变提供了可视化参考。类似研究中, 我们通过 $^{125}\text{I}$  标记 Nivolumab 作为靶向显像剂, 经 SPECT 观察表达 PD-1 的激活免疫细胞, 进而评估 Nivolumab 在结肠癌模型中的靶向性及代谢特征<sup>[9]</sup>, 为本工作中开展基于 Nivolumab 的核素诊疗一体化研究奠定基础。除 PD-1/PD-L1 轴特异性显像以外, 治疗性或诊疗一

体化核素(如 $^{131}\text{I}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{225}\text{Ac}$  等) 标记 PD-1 抗体用于核医学临床前的研究甚少。迄今为止, 临床上尚未批准以 PD-1/PD-L1 抗体介导的治疗性核素用于肿瘤 SIRT, 其相对复杂的合成步骤、临床用药安全性等限制了临床转化。

本研究工作中使用的诊疗一体化核素 $^{131}\text{I}$ , 其物理半衰期约为 8 d, 因此在体内作用时间较长。由于其组织内有效射程仅为 1~2 mm, 对周围正常组织影响小,  $^{131}\text{I}$  作为 SIRT 核素已用于抗 CD20、抗 CEA 等蛋白的诊疗一体化研究, 并取得了较好的临床治疗效果<sup>[10-11]</sup>。基于以上研究背景, 本实验通过 $^{131}\text{I}$  标记 PD-1 抗体 Nivolumab, 探讨放射性碘( $^{131}\text{I}$ ) 标记的 Nivolumab 对结肠癌的治疗作用。相应 PD-1 靶向的高度选择性的内照射治疗通过  $\beta$ -射线直接作用于并破坏肿瘤细胞 DNA 双链结构, 促进肿瘤细胞发生凋亡, 发挥抗肿瘤作用<sup>[12]</sup>。本研究的治疗原理已通过细胞凋亡相关的 Bax、Bcl-2 蛋白指标得以验证。当细胞内 Bax 蛋白较多时, 可促进细胞凋亡; 细胞内 Bcl-2 蛋白增多时, 细胞凋亡趋势减弱。本实验治疗组与未治疗组免疫组化结果显示, 给药 120 h 后, 治疗组比未治疗组的肿瘤组织内 Bax 蛋白表达率明显增高( $22.23 \pm 1.61$ )% vs. ( $13.64 \pm 2.43$ )%, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 治疗组比未治疗组肿瘤组织的 Bcl-2 蛋白表达率明显降低( $13.81 \pm 4.64$ )% vs. ( $25.57 \pm 2.33$ )%, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。该结果表明,  $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 可以诱发结肠癌细胞的凋亡发生, 对结肠癌具有一定的治疗作用。在辅助诊断方面, 虽然 $^{131}\text{I}$  发出的高能  $\gamma$  射线可用于脏器的扫描以及功能测定, 但相比于 $^{123}\text{I}$  等发出纯  $\gamma$  射线的放射性碘而言, 其单光子扫描图像分辨率较低, 图像质量欠佳, 不宜单纯作为特异性显像剂使用。

基于抗体类物质的核素标记应用须建立在尽量不影响其靶向性及免疫原性的前提下, 因此本研究采用基于 BH 试剂的间接标记法来最大化地保留 Nivolumab 的固有结构。该试剂相对分子量小, 以碘标酪氨酸连接到蛋白末端上的形式进行核素标记, 既避免了蛋白质和氧化剂直接接触, 也避免了与放射性碘原子的直接接触, 从而保持 Nivolumab 的生物活性及对 PD-1 抗原的高特异性。 $^{131}\text{I}$ -Tyr-Nivolumab 可在 PD-1 抗体的介导下靶向肿瘤周围激活的 T 细胞, 以实现肿瘤细胞近距离照射治

疗的目的,也可用于体内 SPECT 非侵入性成像,实现诊疗一体化。

本研究创新性地将具有免疫阻断治疗效果的抗体与诊疗一体化核素进行结合,实现免疫阻断治疗与免疫内照射治疗的协同治疗作用。虽然本研究只能用于 PD-1 高表达肿瘤的 SIRT,尚无法广泛用于肿瘤治疗,但是依然可以作为 PD-1 免疫阻断治疗的有力补充,用于精准放疗和对分散性转移病灶的靶向放疗。

**利益冲突** 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

**作者贡献声明** 李丹妮负责研究过程的实施、数据的获取与分析、论文的撰写;任胜男、苏维维、彭焱负责实验的实施和数据、图像的分析;李潇负责研究命题的设计、方法学指导和论文的审阅;左长京负责研究命题的提出、指导、图像的分析及论文的最终审阅。

### 参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30. DOI: [10.3322/caac.21442](https://doi.org/10.3322/caac.21442)
- [2] Sauer R, Becker H, Hohenberger W, et al. Preoperative versus Postoperative Chemoradiotherapy for Rectal Cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(17): 1731-1740. DOI: [10.1056/NEJMoa040694](https://doi.org/10.1056/NEJMoa040694).
- [3] Wolmark N, Wieand HS, Hyams DM, et al. Randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy with or without radiotherapy for carcinoma of the rectum: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol R-02[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(5): 388-396. DOI: [10.1093/jnci/92.5.388](https://doi.org/10.1093/jnci/92.5.388).
- [4] Sunshine J, Taube JM. PD-1/PD-L1 inhibitors[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 23: 32-38. DOI: [10.1016/j.coph.2015.05.011](https://doi.org/10.1016/j.coph.2015.05.011).
- [5] Thara E, Barzi A. Immunotherapeutic Strategies for Colon Cancer: Monoclonal Antibody Therapy[J]. *Curr Colorectal Cancer Rep*, 2015, 11(2): 84-91. DOI: [10.1007/s11888-015-0260-y](https://doi.org/10.1007/s11888-015-0260-y).
- [6] Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, et al. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(11): 965-973. DOI: [10.1111/j.1349-7006.2003.tb01386.x](https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2003.tb01386.x).
- [7] Natarajan A, Mayer AT, Xu LY, et al. Novel Radiotracer for ImmunoPET Imaging of PD-1 Checkpoint Expression on Tumor Infiltrating Lymphocytes[J]. *Bioconjug Chem*, 2015, 26(10): 2062-2069. DOI: [10.1021/acs.bioconjchem.5b00318](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00318).
- [8] England CG, Jiang DW, Ehlerding EB, et al. <sup>89</sup>Zr-labeled nivolumab for imaging of T-cell infiltration in a humanized murine model of lung cancer[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2018, 45(1): 110-120. DOI: [10.1007/s00259-017-3803-4](https://doi.org/10.1007/s00259-017-3803-4).
- [9] Li DN, Wang C, Zhang DK, et al. Preliminary Application of <sup>125</sup>I-Nivolumab to Detect PD-1 Expression in Colon Cancer via SPECT[J]. *J Radioanal Nucl Chem*, 2018, 318(2): 1237-1242. DOI: [10.1007/s10967-018-6124-6](https://doi.org/10.1007/s10967-018-6124-6).
- [10] 李囡,林保和,杨志,等. CD20 阳性 B 细胞 NHL<sup>131</sup>I-美罗华放射免疫治疗剂量个体化的临床初步研究[J]. *同位素*, 2004, 17(4): 204-209. DOI: [10.3969/j.issn.1000-7512.2004.04.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-7512.2004.04.003).  
Li N, Lin BH, Yang Z, et al. The Primary Clinical Study on Individual Radioimmunotherapy Protocol With <sup>131</sup>I-Rituximab for CD20 Positive B Cell Non-Hodgkin's Lymphoma[J]. *J Isotopes*, 2004, 17(4): 204-209. DOI: [10.3969/j.issn.1000-7512.2004.04.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-7512.2004.04.003).
- [11] Ychou M, Pelegrin A, Faurous P, et al. Phase-I/II radioimmunotherapy study with Iodine-131-labeled anti-CEA monoclonal antibody F6 F(ab')<sub>2</sub> in patients with non-resectable liver metastases from colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 1998, 75(4): 615-619. DOI: [10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19980209\)75:4<615::AID-IJC20>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19980209)75:4<615::AID-IJC20>3.0.CO;2-6).
- [12] Maier P, Hartmann L, Wenz F, et al. Cellular Pathways in Response to Ionizing Radiation and Their Targetability for Tumor Radiosensitization[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(1) DOI: [10.3390/ijms17010102](https://doi.org/10.3390/ijms17010102).

(收稿日期: 2018-11-20)