

纳米抗体分子影像探针的研究进展

Reserch progress of molecular imaging with radiolabeled nanobodies

Zhang You, Huang Gang, Wei Weijun, Liu Jianjun

引用本文:

张友, 黄钢, 魏伟军, 等. 纳米抗体分子影像探针的研究进展[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2022, 46(9): 555–560. DOI: 10.3760/cma.j.cn121381–202110007–00207

Zhang You, Huang Gang, Wei Weijun, et al. Reserch progress of molecular imaging with radiolabeled nanobodies[J]. *International Journal of Radiation Medicine and Nuclear Medicine*, 2022, 46(9): 555–560. DOI: 10.3760/cma.j.cn121381–202110007–00207

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381–202110007–00207>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

多模态纳米分子探针在动物模型易损斑块中靶向分子成像的研究进展

Research progress in targeted molecular imaging of multimodal nanomolecular probes in vulnerable plaques in animal models
国际放射医学核医学杂志. 2020, 44(10): 661–666 <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381–201909035–00074>

靶向Tau蛋白PET分子探针的研究进展

Research progress of PET molecular probes targeting Tau protein
国际放射医学核医学杂志. 2020, 44(5): 317–322 <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381–201910028–00031>

视网膜神经受体及其分子显像研究进展

Review of retinal receptors and molecular imaging
国际放射医学核医学杂志. 2017, 41(5): 359–362, 369 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673–4114.2017.05.010>

以血管生成为分子靶点的放射性核素显像分子探针在肿瘤个体化用药中的应用

Targeting angiogenesis of radionuclide imaging molecular probes for tumor individualized medicine
国际放射医学核医学杂志. 2017, 41(5): 363–369 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673–4114.2017.05.011>

分子影像技术在多药耐药监测中的研究进展

The progress of molecular imaging in multidrug resistance
国际放射医学核医学杂志. 2020, 44(3): 174–181 <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381–201812057–00006>

乏氧诱导因子在疾病中作用机制的研究进展

Review of retinal receptors and molecular imaging
国际放射医学核医学杂志. 2017, 41(5): 347–352 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673–4114.2017.05.008>

·综述·

纳米抗体分子影像探针的研究进展

张友 黄钢 魏伟军 刘建军

上海交通大学医学院附属仁济医院核医学科, 上海交通大学医学院临床核医学研究所, 上海 200127

通信作者: 刘建军, Email: nuclearj@163.com

【摘要】 纳米抗体凭借其优越的靶向性、稳定性、溶解度及组织穿透能力, 已成为分子影像领域中的热门靶向分子。多种基于纳米抗体的分子影像探针在临床前研究和临床试验中均已展现出良好的诊断效能。笔者主要介绍纳米抗体分子影像探针在肿瘤中的最新研究进展, 并进一步讨论其临床转化面临的挑战和应对策略。

【关键词】 分子探针; 纳米抗体; 放射免疫显像; 正电子发射断层显像术; 肿瘤诊断

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFA0909000); 国家自然科学基金(82001878、82171972); 上海市青年科技启明星计划(20QA1406100)

DOI: [10.3760/cma.j.cn121381-202110007-00207](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-202110007-00207)

Reserch progress of molecular imaging with radiolabeled nanobodies

Zhang You, Huang Gang, Wei Weijun, Liu Jianjun

Department of Nuclear Medicine, Institute of Clinical Nuclear Medicine, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China

Corresponding author: Liu Jianjun, Email: nuclearj@163.com

【Abstract】 Nanobodies have become popular targeting molecules in the field of molecular imaging due to their excellent targeting ability, superior stability, good solubility, and enhanced tissue penetration ability. A variety of nanobody-based molecular imaging probes have shown great promise for noninvasive diagnosis of human malignancies in preclinical and clinical settings. This review mainly introduces the latest research progress on nanobody-based molecular imaging probes in tumors, and further discusses the challenges and strategies for future clinical translation.

【Key words】 Molecular probes; Nanobody; Radioimmunodetection; Positron-emission tomography; Tumor diagnostics

Fund programs: National Key Research and Development Program of China (2020YFA0909000); National Natural Science Foundation of China (82001878, 82171972); Shanghai Youth Science and Technology Rising-Star Program (20QA1406100)

DOI: [10.3760/cma.j.cn121381-202110007-00207](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-202110007-00207)

大多数哺乳动物体内的单克隆抗体由 2 条重链和 2 条轻链组成, 分子量约 150 kDa。1993 年, 比利时科学家 Hamers-Casterman 等^[1]在鲨鱼和骆驼中发现了没有轻链、只有重链的免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)G, 并基于此 IgG 进一步开发了单域抗体(single domain antibody, sdAb), 也称之为纳米抗体(nanobody)^[2]。纳米抗体相较于单克隆抗体, 具有分子量小(约 15 kDa)、溶解性好、稳定性高、组织穿透能力强且可快速从血液中清除并经肾脏排泄等诸多

优点。此外, 纳米抗体可通过生物工程技术在细菌、酵母或哺乳动物细胞中大规模生产, 制备成本较低, 从而有效促进其临床应用。纳米抗体作为构筑分子影像探针的新型靶向分子, 经放射性核素标记后, 具有短期内获取高质量图像、对疾病进行全面评估及指导个体化精准治疗等优势^[3]。迄今为止, 已经涌现出多种针对不同分子靶标的纳米抗体分子影像探针(简称纳米抗体探针)^[4], 并在肿瘤早期靶点特异性诊断方面发挥了重要作用。我们旨在综述纳米抗体探

针领域的最新研究进展,并对该领域的未来发展作相应的展望。

1 纳米抗体探针在肿瘤中的应用

纳米抗体可应用于多种分子影像学成像技术,如PET/CT、SPECT/CT、光学成像和超声成像等。目前纳米抗体探针的主要靶点包括肿瘤膜抗原及肿瘤微环境中的靶点等,主要包括但不限于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、人表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor, HER)2、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、细胞分化抗原(cell differentiation, CD)、程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)、程序性细胞死亡配体-1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)、淋巴细胞激活基因-3(lymphocyte activation gene-3, LAG-3)等。表1中列举了部分已应用于临床试验的纳米抗体探针。

1.1 PET/CT 显像纳米抗体探针

使用放射性核素⁶⁸Ga、¹⁸F等标记纳米抗体,可制备短半衰期PET/CT分子影像探针。目前,PET/CT显像纳米抗体探针的靶点主要包括HER2和CD38等。

1.1.1 HER2

HER2是乳腺癌经典的生物标志物之一。抗HER2治疗可显著延长HER2阳性乳腺癌患者的生存期。基于纳米抗体的免疫PET显像(immunoPET)有望实现HER2异质性表达的无创可视化。Vaidyanathan等^[7]构建了靶向HER2的纳米抗体探针¹⁸F-RL-I-5F7,证明了该探针可有效评估体内HER2的表达情况。2016年Keyaerts等^[5]制备了⁶⁸Ga-HER2-Nanobody,并在一项纳入了20例乳腺癌患者的临床试验中评估了该探针的诊断效能,结果显示,与周围正常组织相比,HER2阳性乳腺癌病灶中的示踪剂摄取明显增高,这充分证实了⁶⁸Ga-HER2-Nanobody是一种极具临床应用价值的探针。目前该团队正在开展另一项临床试验,研究该探

针对于乳腺癌脑转移灶的检出能力(NCT03331601)。

1.1.2 CD38

CD38是一种在多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)及多种实体瘤细胞中显著高表达的跨膜蛋白。靶向CD38的抗体达雷木单抗(daratumumab)已获批临床,用于MM的治疗。最近,我们团队开发了首个靶向CD38的纳米抗体探针⁶⁸Ga[Ga]-NOTA-Nb1053(NOTA: 1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸, 1,4,7-triacyclononane-1,4,7-tracetic acid),研究结果显示,该探针可特异性可视化皮下及原位骨髓瘤模型中浆细胞表面CD38的表达水平,进而实现MM的无创、靶点特异性精准诊断^[8]。该探针的临床转化应用将有望为MM的早期诊断、靶向治疗患者的筛选及治疗后疗效评价提供全新的路径。关于该探针的临床转化前景,可见最新的述评^[9]。

1.1.3 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)

TAM是肿瘤微环境的重要组成部分,具有多种促肿瘤活性。在肿瘤缺氧部位,具有较强促血管生成作用的TAM高度表达巨噬细胞甘露糖受体(macrophage mannose receptor, MMR)^[10]。Blykers等^[11]制备了纳米抗体探针¹⁸F-anti-MMR sdAb,基于该探针的免疫PET显像成功实现了肿瘤基质中促癌巨噬细胞亚群的无创可视化。Xavier等^[12]利用⁶⁸Ga标记的靶向MMR的纳米抗体探针进一步实现了其临床转化。目前一项临床实验(NCT04168528)的研究者正在研究⁶⁸Ga-NOTA-Anti-MMR-VHH2(VHH:重链抗体可变区,variable domains of heavy chain-only antibodies)免疫PET显像在乳腺癌、头颈部恶性肿瘤或黑色素瘤中的诊断价值。

1.1.4 PD-L1

靶向免疫检查点的免疫治疗正在逐渐改变肿瘤治疗的现状,PD-L1是经典的免疫检查点之一^[13]。然而,病灶内

表1 临床级别的纳米抗体分子影像探针及其靶点

Table 1 Clinical-grade nanobody-based molecular imaging probes and their targets

靶点	探针名称	临床分期	显像方式	年份	研究者 ^[文献] 或临床试验号
HER2	⁶⁸ Ga-HER2-Nanobody	I期	PET/CT	2016	Keyaerts ^[5]
	⁶⁸ Ga-NOTA-Anti-HER2 VHH1	II期	PET/CT	2019	NCT03331601
	¹³¹ I-SGMIB-Anti-HER2 VHH1	I期	SPECT/CT	2016	NCT02683083
	^{99m} Tc-MIRC208	招募中	SPECT/CT	2020	NCT04591652
MMR	⁶⁸ Ga-NOTA-Anti-MMR-VHH2	I/II a期	PET/CT	2019	NCT04168528
PD-L1	^{99m} Tc-NM01	I期	SPECT/CT	2019	Xing ^[6]

注:HER2为人表皮生长因子受体2;MMR为巨噬细胞甘露糖受体;PD-L1为程序性细胞死亡配体1;NOTA为1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸;VHH为重链抗体可变区;PET为正电子发射断层显像术;CT为计算机断层摄影术;SPECT为单光子发射计算机断层摄影术;NCT为国家的临床试验

PD-L1 是否表达及表达程度将直接影响免疫治疗的效果。*Nature Medicine* 杂志刊登的一项临床试验初步报道了 PD-L1 特异性单克隆抗体免疫 PET 显像探针可视化 PD-L1 异质性表达、预测 PD-L1 特异性免疫治疗疗效的价值^[14]。近期,国内研究者构建了一种靶向 PD-L1 的纳米抗体探针⁶⁸Ga-NOTA-Nb109,该探针可以利用 PET/CT 显像无创显示肿瘤 PD-L1 的表达情况并且及时准确评估免疫检查点靶向治疗的效果^[15-16]。

1.1.5 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)

ECM 对于促进肿瘤细胞的发生发展、增殖及迁移等具有重要的影响^[17]。纤维连接蛋白 (fibronectin) 是一种糖蛋白,是构成肿瘤细胞外基质和新生血管的主要成分。Jailkhani 等^[18] 从靶向 ECM 蛋白的纳米抗体文库中筛选出了一种靶向纤维连接蛋白剪接体 EIIIB 的纳米抗体 NJB2,通过⁶⁴Cu 标记构建了⁶⁴Cu-labeled-NJB2,最后通过免疫 PET 显像证明了该探针在检测肿瘤原发灶、肿瘤转移灶、纤维化病变及以 ECM 沉积为特征的疾病中具有良好的特异度和灵敏度。

1.1.6 免疫细胞

肿瘤浸润的 CD8 阳性 (CD8⁺) T 淋巴细胞在抗肿瘤免疫应答中起着重要作用。目前多项临床试验正在评估靶向 CD8⁺ T 淋巴细胞分子探针 (⁸⁹Zr-Df-IAB22M2C) 的临床应用价值^[19-21]。Rashidian 等^[22] 及我们团队^[23] 分别构建了靶向 CD8⁺ T 细胞的纳米抗体探针⁸⁹Zr-PEGylated-VHH-X118 及⁶⁸Ga-NOTA-SNA006a,上述探针在 CD8⁺ T 细胞的可视化及免疫治疗疗效的监测方面展现出了一定的价值,其临床应用价值有待进一步研究。

1.1.7 其他靶点特异性纳米抗体探针

除了上述的靶点之外,还有多种针对其他不同靶点的纳米抗体探针处于临床前研究阶段,如前列腺特异性膜抗原 (PSMA)^[24-25]、MM 细胞的表面标志物 M 蛋白^[26] 和癌胚抗原 (CEA)^[27] 等。

1.2 SPECT/CT 显像纳米抗体探针

使用发射 γ 射线的放射性同位素 (如⁹⁹Tc^m、¹¹¹In 等) 标记纳米抗体可进行 SPECT/CT 显像。EGFR 是酪氨酸激酶受体家族的跨膜蛋白,其过度表达与多种恶性肿瘤的总体生存率和复发率相关。7D12 是第 1 个被应用于分子影像的靶向 EGFR 的纳米抗体^[28]。Renard 等^[29] 合成了¹¹¹In-labeled DTPA-IRDye700DX-7D12,该探针可进行 SPECT/CT 及荧光双模态显像,准确可视化肿瘤细胞 EGFR 的表达情况,有望筛选可从 EGFR 靶向治疗中获益的患者。赵晋华团队首次将⁹⁹Tc^m 标记的抗 PD-L1 纳米抗体 (NM-01) 探针应用于非小细胞肺癌患者的 SPECT/CT 显像,研究结果显示,⁹⁹Tc^m-NM-01 SPECT/CT 显像安全无不良反应,且在注射后 2 h 显示出良好的 T、NT,肿瘤的摄取水平与组织活检所

示 PD-L1 的表达情况具有良好的一致性^[6]。近期, Lecocq 等^[30] 报道了一种靶向免疫检查点 LAG-3 的纳米抗体探针⁹⁹Tc^m-labeled nanobody 3132,利用 SPECT/CT 显像可以无创监测肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 表面 LAG-3 的动态演变,从而有望预测肿瘤患者的免疫治疗效果及远期预后。

1.3 光学成像纳米抗体探针

活体光学成像包括生物发光技术和荧光技术。生物发光技术是采用荧光素酶基因 (luciferase) 转染细胞,培养出能稳定表达荧光素酶的细胞株,进而通过光学成像进行生物发光;而荧光技术则采用荧光报告基因标记相应靶点进行显像。近期, Nix 等^[31] 通过细胞表面蛋白质组学揭示了 CD72 是预后不良的 KMT2A/MLL1 (赖氨酸甲基转移酶 2A 基因易位的混合谱系白血病, Lysine methyltransferase 2A translocations of the mixed lineage leukemia) 重组急性 B 淋巴细胞白血病的潜在靶标,并构建了靶向 CD72 的纳米抗体 NbD4,制备了基于 NbD4 主动靶向的嵌合抗原受体 T 细胞 NbD4-CAR-T,进一步通过生物发光显像技术无创评估了 NbD4-CAR-T 对于 KMT2A/MLL1 重组急性 B 淋巴细胞白血病的疗效。其研究结果显示, CD72-CAR-T 可延长 CD19-CAR-T 治疗失败的 KMT2A/MLL1 重组急性 B 淋巴细胞白血病患者生存期;此外,将靶向 HER2 的纳米抗体 11A4 与近红外荧光团 IRDye 800CW 偶联后可特异性地定位于 HER2 阳性异种移植小鼠的肿瘤部位。因此,利用近红外荧光成像进行图像引导手术,可精准切除 HER2 阳性肿瘤^[32]。

1.4 超声分子成像纳米抗体探针

超声分子成像是一种新颖的肿瘤诊断方法,将携带靶向特异性的抗体或配体的超声造影剂注射入体内,通过血液循环聚集于肿瘤部位,进而进行超声分子成像。碳酸酐酶 IX (CAIX) 在包括肾细胞癌在内的多种恶性实体瘤细胞膜高度表达,是构建分子影像探针的良好靶标。Zhu 等^[33] 构建了一种带有 CAIX 多肽的靶向纳米气泡,体内外研究结果显示,该气泡具有良好的穿透能力和特异性,可进行多种肿瘤的超声分子成像。

2 提高显像质量及促进临床转化

纳米抗体探针由于分子量小、循环时间短,导致其在体内迅速经过肾脏代谢并在肾脏内滞留。尽管在短时间内高亲和力的纳米抗体探针在肿瘤部位已有较高摄取,可勉强满足肿瘤诊断的需求,但是仍需对其药代动力学性质进一步优化,从而提高 T、NT,促进其临床转化。此外,肾脏的持久高摄取及体内较短的循环时间还阻碍了纳米抗体探针在肿瘤治疗方面的应用。以下就目前推动纳米抗体探针临床转化所采取的相应策略展开简要介绍。

2.1 提高靶向亲和力

Rashidian 等^[34]通过对纳米抗体的位点特异性修饰,合成了双特异性纳米抗体探针,其在荷瘤小鼠中显示了更强的亲和力。相较于单靶点纳米抗体探针,双特异性纳米抗体探针不仅增强了靶向特异性,还提高了靶向亲和力,实现了“1+1>2”的效果。双特异性纳米抗体探针已在多项动物实验中应用于放射性核素标记的显像、荧光成像和MRI等^[35]。HuNb1-IgG4是一种新型的抗CD47纳米抗体,具有较高的靶向亲和力和特异性。II期临床试验(NCT02216409)证实了其在体内较强的抗卵巢癌和抗淋巴瘤活性^[36]。在此基础上, Ma 等^[37]合成了一种由HuNb1-IgG4和利妥昔单抗(Rituximab)组成的抗CD47/CD20双特异性抗体(BsAb),结果表明,其具有更强的选择性结合及抗肿瘤活性。此外,通过在纳米抗体末端引入特定标签,从而实现核素的定点标记,避免了随机标记破坏纳米抗体抗原结合位点的可能,这同样可提高纳米抗体探针的靶向亲和力^[38]。

2.2 降低肾脏摄取

纳米抗体探针在肾脏摄取较高主要是由放射性核素标记的探针经肾小球滤过、近曲小管重吸收后被溶酶体降解所产生的放射性代谢产物在肾脏内长时间滞留所致。因此,降低肾脏摄取的主要方法可分为三个方面,一是减少肾小球滤过;二是抑制肾小管重吸收;三是在放射性核素标记的纳米抗体探针中引入代谢键来改变其在体内的代谢途径^[39]。最近, Zhou 等^[40-41]利用点击化学在纳米抗体探针中引入连接子GK,其可被肾近曲小管中的肾刷状缘酶选择性剪切,从而使放射性核素标记的基因随尿液排出,结果显示,在注射该探针3h后,几乎无法检测到肾脏摄取。此外, Wang 等^[8]的研究结果表明,在注射探针前5min注射马来酸钠或果糖,可通过抑制肾近曲小管细胞产生ATP的方式,显著降低纳米抗体探针在肾脏的滞留。降低纳米抗体探针在肾脏的滞留不仅有助于提高图像质量,还可为纳米抗体介导的核素治疗及抗体偶联药物的发展提供可能。

2.3 延长体内循环时间

Hong 等^[42]利用分选酶技术在靶向人EGFR的纳米抗体7D12的羧基末端引入二硝基苯基半抗原(DNP),修饰后的抗体可与内源性抗体结合形成原位免疫复合物,从而减慢其在肾脏的代谢,显著延长了其在小鼠体内的循环时间。Xenaki 等^[43]将白蛋白结合域(ABD)引入纳米抗体,构建纳米抗体融合蛋白,其可与体内白蛋白结合从而不再经过肾小球滤过,体内外实验结果表明,其循环时间较纳米抗体延长了14.8倍。此外,还可通过在纳米抗体中引入聚乙二醇链^[44]、富含脯氨酸/丙氨酸的序列(PASylation)^[45]等方式延长纳米抗体在体内的循环时间,增加肿瘤部位的摄取,从而提高显像质量,进一步协助对肿瘤的诊断及

治疗。

3 小结与展望

随着免疫PET显像技术的逐步兴起^[46],纳米抗体探针也以其独特的优势迅速发展。除上述的靶点外,尚有其他靶点特异性纳米抗体探针在多项临床前研究中展现出了较好的诊断效果。随着分子生物学技术的不断迭代和对肿瘤病理生理过程的不断深入认知,越来越多的关键靶点将可用于纳米抗体探针的研发。为进一步有效推进纳米抗体探针的临床转化与应用,我们强调必须首先在符合药品生产质量管理规范(GMP)的条件下生产纳米抗体,并用于探针的构建,从而有效减轻药物所致的不良反应,保障患者的安全。我们认为,肿瘤靶点特异性诊断应服务于肿瘤靶点特异性治疗。虽然小分子药物、抗体类药物及细胞治疗等均可实现肿瘤的靶向治疗,但发展靶点特异性纳米抗体放射免疫治疗药物,优化其药代动力学和药效动力学性质,或将进一步助力实现肿瘤的精准确诊^[43,47-48]。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 张友负责综述的撰写与修改;黄钢、魏伟军、刘建军负责综述的审阅与最终版本的修订

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Muyldermans S. Nanobodies: natural single-domain antibodies[J]. *Annu Rev Biochem*, 2013, 82: 775-797. DOI: 10.1146/annurev-biochem-063011-092449.
- [3] Bao GF, Tang M, Zhao J, et al. Nanobody: a promising toolkit for molecular imaging and disease therapy[J/OL]. *EJNMMI Res*, 2021, 11(1): 6[2021-10-10]. <https://ejnmmires.springeropen.com/articles/10.1186/s13550-021-00750-5>. DOI: 10.1186/s13550-021-00750-5.
- [4] Verhaar ER, Woodham AW, Ploegh HL. Nanobodies in cancer[J]. *Semin Immunol*, 2021, 52: 101425. DOI: 10.1016/j.smim.2020.101425.
- [5] Keyaerts M, Xavier C, Heemskerk J, et al. Phase I study of ⁶⁸Ga-HER2-nanobody for PET/CT assessment of HER2 expression in breast carcinoma[J]. *J Nucl Med*, 2016, 57(1): 27-33. DOI: 10.2967/jnumed.115.162024.
- [6] Xing Y, Chand G, Liu CC, et al. Early phase I study of a ^{99m}Tc-labeled anti-programmed death ligand-1 (PD-L1) single-domain antibody in SPECT/CT assessment of PD-L1 expression in non-small cell lung cancer[J]. *J Nucl Med*, 2019, 60(9): 1213-1220. DOI: 10.2967/jnumed.118.224170.

- [7] Vaidyanathan G, McDougald D, Choi J, et al. Preclinical evaluation of ^{18}F -labeled anti-HER2 nanobody conjugates for imaging HER2 receptor expression by immuno-PET[J]. *J Nucl Med*, 2016, 57(6): 967–973. DOI: [10.2967/jnumed.115.171306](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.171306).
- [8] Wang C, Chen YM, Hou YN, et al. ImmunoPET imaging of multiple myeloma with [^{68}Ga]Ga-NOTA-Nb1053[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2021, 48(9): 2749–2760. DOI: [10.1007/s00259-021-05218-1](https://doi.org/10.1007/s00259-021-05218-1).
- [9] Shi SX, Goel S, Lan XL, et al. ImmunoPET of CD38 with a radiolabeled nanobody: promising for clinical translation[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2021, 48(9): 2683–2686. DOI: [10.1007/s00259-021-05329-9](https://doi.org/10.1007/s00259-021-05329-9).
- [10] Movahedi K, Schoonoghe S, Laoui D, et al. Nanobody-based targeting of the macrophage mannose receptor for effective *in vivo* imaging of tumor-associated macrophages[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(16): 4165–4177. DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-11-2994](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-2994).
- [11] Blykers A, Schoonoghe S, Xavier C, et al. PET imaging of macrophage mannose receptor-expressing macrophages in tumor stroma using ^{18}F -radiolabeled camelid single-domain antibody fragments[J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(8): 1265–1271. DOI: [10.2967/jnumed.115.156828](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.156828).
- [12] Xavier C, Blykers A, Laoui D, et al. Clinical translation of [^{68}Ga]Ga-NOTA-anti-MMR-sdAb for PET/CT imaging of protumorigenic macrophages[J]. *Mol Imaging Biol*, 2019, 21(5): 898–906. DOI: [10.1007/s11307-018-01302-5](https://doi.org/10.1007/s11307-018-01302-5).
- [13] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(26): 2443–2454. DOI: [10.1056/NEJMoa1200690](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200690).
- [14] Bensch F, Van Der Veen EL, Lub-De Hooge MN, et al. ^{89}Zr -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](https://doi.org/10.1038/s41591-018-0255-8).
- [15] Liu QZ, Jiang L, Li K, et al. Immuno-PET imaging of ^{68}Ga -labeled nanobody Nb109 for dynamic monitoring the PD-L1 expression in cancers[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(6): 1721–1733. DOI: [10.1007/s00262-020-02818-y](https://doi.org/10.1007/s00262-020-02818-y).
- [16] Lv GC, Sun XR, 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](https://doi.org/10.2967/jnumed.119.226712).
- [17] Cox TR. The matrix in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(4): 217–238. DOI: [10.1038/s41568-020-00329-7](https://doi.org/10.1038/s41568-020-00329-7).
- [18] Jailkhani N, Ingram JR, Rashidian M, et al. Noninvasive imaging of tumor progression, metastasis, and fibrosis using a nanobody targeting the extracellular matrix[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(28): 14181–14190. DOI: [10.1073/pnas.1817442116](https://doi.org/10.1073/pnas.1817442116).
- [19] Pandit-Taskar N, Postow MA, Hellmann MD, et al. First-in-humans imaging with ^{89}Zr -Df-IAB22M2C Anti-CD8 minibody in patients with solid malignancies: preliminary pharmacokinetics, biodistribution, and lesion targeting[J]. *J Nucl Med*, 2020, 61(4): 512–519. DOI: [10.2967/jnumed.119.229781](https://doi.org/10.2967/jnumed.119.229781).
- [20] Farwell MD, Gamache RF, Babazada H, et al. CD8-targeted PET imaging of tumor-infiltrating T cells in patients with cancer: a phase I first-in-humans study of ^{89}Zr -Df-IAB22M2C, a radiolabeled anti-CD8 minibody[J]. *J Nucl Med*, 2022, 63(5): 720–726. DOI: [10.2967/jnumed.121.262485](https://doi.org/10.2967/jnumed.121.262485).
- [21] Griessinger CM, Olafsen T, Mascioni A, et al. The PET-tracer ^{89}Zr -Df-IAB22M2C enables monitoring of intratumoral CD8 T-cell infiltrates in tumor-bearing humanized mice after T-cell bispecific antibody treatment[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(13): 2903–2913. DOI: [10.1158/0008-5472.Can-19-3269](https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-19-3269).
- [22] Rashidian M, Ingram JR, Dougan M, et al. Predicting the response to CTLA-4 blockade by longitudinal noninvasive monitoring of CD8 T cells[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(8): 2243–2255. DOI: [10.1084/jem.20161950](https://doi.org/10.1084/jem.20161950).
- [23] Zhao HT, Wang C, Yang YL, et al. ImmunoPET imaging of human CD8⁺ T cells with novel ^{68}Ga -labeled nanobody companion diagnostic agents[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 42[2021-10-10]. <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-021-00785-9>. DOI: [10.1186/s12951-021-00785-9](https://doi.org/10.1186/s12951-021-00785-9).
- [24] Rosenfeld L, Sananes A, Zur Y, et al. Nanobodies targeting prostate-specific membrane antigen for the imaging and therapy of prostate cancer[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(14): 7601–7615. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.0c00418](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00418).
- [25] Chatalic KLS, Veldhoven-Zweistra J, Bolkestein M, et al. A novel ^{111}In -labeled anti-prostate-specific membrane antigen nanobody for targeted SPECT/CT imaging of prostate cancer[J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(7): 1094–1099. DOI: [10.2967/jnumed.115.156729](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.156729).
- [26] Lemaire M, D'Huyvetter M, Lahoutte T, et al. Imaging and radioimmunotherapy of multiple myeloma with anti-idiotypic nanobodies[J]. *Leukemia*, 2014, 28(2): 444–447. DOI: [10.1038/leu.2013.292](https://doi.org/10.1038/leu.2013.292).
- [27] Wang H, Meng AM, Li SH, et al. A nanobody targeting carcinoembryonic antigen as a promising molecular probe for non-small cell lung cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(1): 625–630. DOI: [10.3892/mmr.2017.6677](https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6677).
- [28] Vosjan MJWD, Perk LR, Roovers RC, et al. Facile labelling of an anti-epidermal growth factor receptor Nanobody with ^{68}Ga via a novel bifunctional desferal chelate for immuno-PET[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2011, 38(4): 753–763. DOI: [10.1007/s00259-010-1700-1](https://doi.org/10.1007/s00259-010-1700-1).
- [29] Renard E, Camps EC, Canovas C, et al. Site-specific dual-labeling of a VHH with a chelator and a photosensitizer for nuclear imaging and targeted photodynamic therapy of EGFR-positive tumors[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(3): 428[2021-10-10]. <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/3/428>. DOI: [10.3390/cancers13030428](https://doi.org/10.3390/cancers13030428).

- [30] Lecocq Q, Awad RM, De Vlaeminck Y, et al. Single-domain antibody nuclear imaging allows noninvasive quantification of LAG-3 expression by tumor-infiltrating leukocytes and predicts response of immune checkpoint blockade[J]. *J Nucl Med*, 2021, 62(11): 1638–1644. DOI: [10.2967/jnumed.120.258871](https://doi.org/10.2967/jnumed.120.258871).
- [31] Nix MA, Mandal K, Geng HM, et al. Surface proteomics reveals CD72 as a target for *in vitro*-evolved nanobody-based CAR-T cells in *KMT2A/MLL1*-rearranged B-ALL[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(8): 2032–2049. DOI: [10.1158/2159-8290.CD-20-0242](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0242).
- [32] Kijanka M, Warnders FJ, El Khattabi M, et al. Rapid optical imaging of human breast tumour xenografts using anti-HER2 VHHs site-directly conjugated to IRDye 800CW for image-guided surgery[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2013, 40(11): 1718–1729. DOI: [10.1007/s00259-013-2471-2](https://doi.org/10.1007/s00259-013-2471-2).
- [33] Zhu LH, Guo YL, Wang LF, et al. Construction of ultrasonic nanobubbles carrying CAIX polypeptides to target carcinoma cells derived from various organs[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2017, 15(1): 63[2021-10-10]. <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-017-0307-0>. DOI: [10.1186/s12951-017-0307-0](https://doi.org/10.1186/s12951-017-0307-0).
- [34] Rashidian M, Wang L, Edens JG, et al. Enzyme-mediated modification of single-domain antibodies for imaging modalities with different characteristics[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55(2): 528–533. DOI: [10.1002/anie.201507596](https://doi.org/10.1002/anie.201507596).
- [35] Ehlerding EB, Sun LY, Lan XL, et al. Dual-targeted molecular imaging of cancer[J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(3): 390–395. DOI: [10.2967/jnumed.117.199877](https://doi.org/10.2967/jnumed.117.199877).
- [36] Sikic BI, Lakhani N, Patnaik A, et al. First-in-human, first-in-class phase I trial of the anti-CD47 antibody Hu5F9-G4 in patients with advanced cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(12): 946–953. DOI: [10.1200/JCO.18.02018](https://doi.org/10.1200/JCO.18.02018).
- [37] Ma LL, Zhu M, Gai JW, et al. Preclinical development of a novel CD47 nanobody with less toxicity and enhanced anti-cancer therapeutic potential[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2020, 18(1): 12[2021-10-10]. <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-020-0571-2>. DOI: [10.1186/s12951-020-0571-2](https://doi.org/10.1186/s12951-020-0571-2).
- [38] Feng YT, Zhou ZY, McDougald D, et al. Site-specific radioiodination of an anti-HER2 single domain antibody fragment with a residualizing prosthetic agent[J]. *Nucl Med Biol*, 2021, 92: 171–183. DOI: [10.1016/j.nucmedbio.2020.05.002](https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2020.05.002).
- [39] Akizawa H, Uehara T, Arano Y. Renal uptake and metabolism of radiopharmaceuticals derived from peptides and proteins[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(12): 1319–1328. DOI: [10.1016/j.addr.2008.04.005](https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.04.005).
- [40] Zhou ZY, Meshaw R, Zalutsky MR, et al. Site-specific and residualizing linker for ^{18}F labeling with enhanced renal clearance: application to an Anti-HER2 single-domain antibody fragment[J]. *J Nucl Med*, 2021, 62(11): 1624–1630. DOI: [10.2967/jnumed.120.261446](https://doi.org/10.2967/jnumed.120.261446).
- [41] Zhou ZY, Devoogdt N, Zalutsky MR, et al. An efficient method for labeling single domain antibody fragments with ^{18}F using tetrazine- trans-cyclooctene ligation and a renal brush border enzyme-cleavable linker[J]. *Bioconjug Chem*, 2018, 29(12): 4090–4103. DOI: [10.1021/acs.bioconjugchem.8b00699](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjugchem.8b00699).
- [42] Hong HF, Zhou ZF, Zhou K, et al. Site-specific C-terminal dinitrophenylation to reconstitute the antibody Fc functions for nanobodies[J]. *Chem Sci*, 2019, 10(40): 9331–9338. DOI: [10.1039/c9sc03840j](https://doi.org/10.1039/c9sc03840j).
- [43] Xenaki KT, Dorrestijn B, Muns JA, et al. Homogeneous tumor targeting with a single dose of HER2-targeted albumin-binding domain-fused nanobody-drug conjugates results in long-lasting tumor remission in mice[J/OL]. *Theranostics*, 2021, 11(11): 5525–5538[2021-10-10]. <https://www.thno.org/v11p5525.htm>. DOI: [10.7150/thno.57510](https://doi.org/10.7150/thno.57510).
- [44] Lee W, Bobba KN, Kim JY, et al. A short PEG linker alters the *in vivo* pharmacokinetics of trastuzumab to yield high-contrast immuno-PET images[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(13): 2993–2997. DOI: [10.1039/d0tb02911d](https://doi.org/10.1039/d0tb02911d).
- [45] Peplau E, De Rose F, Reder S, et al. Development of a chimeric antigen-binding fragment directed against human galectin-3 and validation as an immuno-positron emission tomography tracer for the sensitive *in vivo* imaging of thyroid cancer[J]. *Thyroid*, 2020, 30(9): 1314–1326. DOI: [10.1089/thy.2019.0670](https://doi.org/10.1089/thy.2019.0670).
- [46] Wei WJ, Rosenkrans ZT, Liu JJ, et al. ImmunoPET: concept, design, and applications[J]. *Chem Rev*, 2020, 120(8): 3787–3851. DOI: [10.1021/acs.chemrev.9b00738](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00738).
- [47] Panikar SS, Banu N, Haramati J, et al. Nanobodies as efficient drug-carriers: Progress and trends in chemotherapy[J]. *J Control Release*, 2021, 334: 389–412. DOI: [10.1016/j.jconrel.2021.05.004](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.05.004).
- [48] D'Huyvetter M, De Vos J, Caveliers V, et al. Phase I trial of ^{131}I -GMIB-Anti-HER2-VHH1, a new promising candidate for HER2-targeted radionuclide therapy in breast cancer patients[J]. *J Nucl Med*, 2021, 62(8): 1097–1105. DOI: [10.2967/jnumed.120.255679](https://doi.org/10.2967/jnumed.120.255679).

(收稿日期: 2021-10-11)