

靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针的研究进展

代鹏飞 综述 徐慧琴 审校

摘要 基于程序性细胞死亡受体蛋白-1/程序性细胞死亡配体蛋白-1 (PD-1/PD-L1) 免疫治疗已经成为肿瘤治疗的创新性疗法,研究发现 PD-1/PD-L1 表达水平与该治疗效果密切相关。靶向 PD-1/PD-L1 免疫检查点 PET 探针可以无创、精确、实时、动态、全面地实现在体检测 PD-1/PD-L1 表达水平,从而有效地筛选能从 PD-1/PD-L1 免疫治疗中获益的患者,及时对疗效和预后进行评价。目前已发展的靶向 PD-1/PD-L1 免疫检查点抗体类 PET 探针存在缺陷,限制了在临床上的应用范围。小分子 PET 探针具有生物体内半衰期短、化学稳定性好、无免疫原性和成本廉价等优点,主要总结靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针的研究进展,以期为发展新型的靶向 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针提供新的思路。

关键词 免疫治疗; 免疫检查点; PD-1/PD-L1; 小分子 PET 探针

中图分类号 R 730.51

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)02-0337-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.02.029

近年来,免疫检查点[程序性细胞死亡受体蛋白-1/程序性细胞死亡配体蛋白-1 (programmed cell death protein-1/programmed cell death ligand protein-1, PD-1/PD-L1) 细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, CTLA-4) 淋巴细胞激活基因-3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 等]抑制剂是临床研究最多和发展最快的免疫治疗方法,尤其是 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂受到了研究者广泛关注^[1-3]。由于恶性肿瘤在时间和空间存在高度异质性,免疫组织化学方法 (immunohistochemistry, IHC) 存在一定的局限性^[4]。核医学分子影像技术,尤其是 PET,可以无创、精确、实时、动态、全面实现在体检测 PD-1/PD-L1 表达水

平,从而有效地筛选出能从 PD-1/PD-L1 免疫治疗中获益的患者。目前已发展的靶向 PD-1/PD-L1 免疫检查点 PET 探针多数属于单克隆抗体和抗体片段的 PET 探针^[5]。然而,这些类型探针由于分子量大、代谢时间长、免疫原性、复杂的制备工艺限制了其在临床上的应用。所以,开发小分子 PET 探针至关重要。基于目前少有文献总结靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 多肽和有机小分子 PET 探针的发展情况,本文主要总结该领域的研究进展,以期为发展新型的靶向 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针提供新的思路和带来新的机遇。

1 PD-1/PD-L1 信号通路概述

PD-1 是含有 268 个氨基酸的诱导表达 I 型跨膜蛋白,属于免疫球蛋白 B7-CD28 超家族成员,经诱导后主要表达于活化的 T 细胞、B 细胞、调节性 T 细胞、NK 细胞和树突状细胞等免疫细胞表面。PD-L1 是含有 290 个氨基酸的 I 型跨膜蛋白,属于免疫球蛋白 B7 超家族成员,主要表达于活化的 T 细胞、B 细胞、抗原呈递细胞 (antigen presenting cell, APC)、巨噬细胞和多种癌细胞 (黑色素瘤、乳腺癌、非小细胞肺癌、胃癌、膀胱癌、肾癌、卵巢癌等) 表面。PD-1 与配体 PD-L1 结合后,PD-1 胞内区具有磷酸化作用位点 C 端氨基酸残基的免疫受体酪氨酸转换基序 (immunoreceptor tyrosine-based switch motif, ITSM),在酪氨酸位点发生磷酸化,募集酪氨酸蛋白磷酸酶 SHP-2,从而使下游的脾脏酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, Syk) 和磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 去磷酸化,进而抑制下游的 AKT、mTOR、RAS、MEK、ERK 等通路的活化,最终抑制 T 细胞活化、增殖以及细胞因子的分泌。在健康的生物体内,这种免疫的负调控机制能使机体免于自身免疫应答过强出现的免疫损伤,避免了自身免疫性疾病 (系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、胰岛素依赖性糖尿病等) 的发生。PD-L1 在黑色素瘤、乳腺癌和非小细胞肺癌等癌细胞表面过度表达,从而持续异常地激活免疫检查点 PD-1/PD-L1 信号通路,进而负性调节免疫应答系统,实现了癌细

2022-12-29 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81971643); 安徽省自然科学基金 (编号: 2108085QH355); 安徽医科大学第一附属医院院内青年培育计划 (编号: 2021kj05)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院核医学科,合肥 230022

作者简介: 代鹏飞,男,助理研究员,博士后;

徐慧琴,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: hfxuhuiqin@163.com

胞的免疫逃逸,造成了癌细胞的恶性增殖。阻断免疫细胞表面 PD-1 与癌细胞表面 PD-L1 的结合,抑制 PD-1/PD-L1 信号通路的活化,阻断负性调控信号,释放活化 T 细胞的免疫应答能力,从而修复机体正常免疫反应并控制和清除癌细胞。因此,免疫检查点 PD-1/PD-L1 信号通路是一个理想的免疫治疗靶点^[6]。

2 PD-1/PD-L1 表达作为肿瘤免疫治疗的重要生物标志物

迄今为止,全球已经有数十种抗体类 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂获批上市,用于黑色素瘤、结直肠癌、非小细胞肺癌、尿路上皮癌、肾细胞癌和肝癌等癌症的治疗^[7]。多项临床试验证实,癌症患者体内 PD-1/PD-L1 表达水平与其是否能从 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂治疗中获益存在一定的正向相关^[8]。目前,PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂总体响应率仅为 15%~40%,而且单独使用 PD-1 单抗抑制剂的总体响应率仅为 20%^[9]。一项关于派姆单抗(pembrolizumab)用于非小细胞肺癌(NSCLC)的 III 期临床试验表明^[10],患者的客观缓解率(objective response rate, ORR)、无进展生存期(progression-free survival, PFS)和中位生存期(median survival time, MST)与 PD-L1 表达水平呈正相关。并且,当患者体内 PD-L1 表达超过 50% 时,ORR 达到 45.2%。纳武单抗(nivolumab)用于非小细胞肺鳞癌临床试验表明,PD-L1 表达阳性患者的 ORR 和 MST 分别为 31% 和 17.2 个月,而 PD-L1 表达阴性患者的 ORR 和 MST 仅为 9% 和 10.4 个月。2020 年 NCCN 发布的 NSCLC 指南中,明确指出了不同 PD-1/PD-L1 表达水平使用不同免疫治疗方案。所以,准确检测 PD-1/PD-L1 表达水平,可以有效地筛选能从 PD-1/PD-L1 免疫治疗中获益的患者,对患者进行分层治疗、疗效监测和预后评价具有重要意义。

3 靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 抗体类 PET 探针

近年来,靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 的单克隆抗体、双特异性抗体、纳米抗体、抗体片段、单链抗体、亲合体、Adnectin 和类抗体支架蛋白等的 PET 分子探针到了迅速发展^[11-13]。本文概括了一些靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 抗体类 PET 探针的情况,见表 1。虽然免疫 PET 显像(Immuno-PET)发展迅速、特异性好,但是相对分子量大、生物半衰期长、免疫原性强、制备困难、需要特殊的基因组编辑技术、肝脏非特异性高摄取等缺陷,使其具有一定的局限性。

4 靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针

相比于单克隆抗体、双特异性抗体、纳米抗体、抗体片段、单链抗体、亲合体和 Adnectin 等类抗体支架蛋白,小分子多肽和有机小分子化合物具有以下优点:生物体内半衰期短、组织穿透力强、可修饰性强、无免疫原性、合成简单、成本廉价、化学稳定性好、运输便捷和显像时间短等优点^[24]。

4.1 核素标记的多肽小分子 PET 探针 WL12 是一种由 12 个氨基酸构成的高亲和性靶向 PD-L1 环状肽,其半数抑制浓度(half inhibit concentration, IC₅₀)值为 20 nmol/L^[25]。分子对接相互作用分析表明,WL12 在 PD-L1 的凹槽中形成了 β 片状结构。WL12 的 D-亮氨酸类似于 PD-1 的 Ile134 插入到疏水性口袋中,其中一个正亮氨酸残基结合方式与 PD-1 的 Ile126 结合方式相同。此外,WL12 与 PD-L1 之间存在大量的氢键。有研究者在放射性核素标记多肽小分子抑制剂 WL12 制备多肽小分子 PET 探针领域做了大量的工作^[26-28],见表 2。

2017 年,有研究者将 DOTAGA 双功能螯合剂连接在 WL12 多肽上^[26]。随后,使用 ⁶⁴Cu 进行放射性核素标记制备了多肽小分子 PET 探针 [⁶⁴Cu]WL12。研究显示 [⁶⁴Cu]WL12 与 PD-L1 具有较强

表 1 靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 抗体类 PET 探针

配体	核素	显像时间	靶点	肿瘤类型	参考文献
阿特殊单抗	⁶⁴ Cu	1~2 d	PD-L1	乳腺癌	14
阿特殊单抗	⁸⁹ Zr	4 d	PD-L1	肺癌	15
阿维鲁单抗	⁸⁹ Zr	3 d	PD-L1	三阴性乳腺癌	16
BMS-986192	¹⁸ F	2 h	PD-L1	肺癌、结肠癌	17
BMS-986192	¹⁸ F	1 h	PD-L1	肺癌、卵巢癌	18
派姆单抗	⁶⁴ Cu	1 d	PD-1	黑色素瘤	19
纳武单抗	⁸⁹ Zr	7 d	PD-1	非小细胞肺癌	20
JS-001	¹²⁴ I	3 d	PD-1	小鼠肉瘤	21
RMP1-14	⁶⁴ Cu	1 d	PD-1	乳腺癌	22
Adnectin	¹⁸ F	2 h	PD-1	乳腺癌	23

表2 靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针

配体	核素	显像时间(h)	靶点	肿瘤类型	参考文献
WL12	⁶⁴ Cu	1	PD-L1	CHO	26
WL12	⁶⁸ Ga	1	PD-L1	CHO	27
WL12	¹⁸ F	2	PD-L1	CHO	28
WL12	⁶⁸ Ga	1	PD-L1	NSCLC	29
LN	¹⁸ F	0.25	PD-L1	A375 细胞	32
LG-1	¹⁸ F	1	PD-L1	A375 细胞	33

亲和力($K_d = 2.9 \text{ nmol/L}$)。随后在构建的 PD-L1 表达阳性和 PD-L1 表达阴性的中国仓鼠卵巢细胞(CHO)肿瘤的荷瘤鼠模型中进行 PET-CT 显像,研究表明,在注射 10 min 后即可在 PD-L1 表达阳性的荷瘤鼠模型中观察到 [⁶⁴Cu]WL12 的高摄取,可以持续到 120 h,免疫组化证实了该结果;而 PD-L1 表达阴性的荷瘤鼠模型中并未观察到 [⁶⁴Cu]WL12 的高摄取。hPD-L1 肿瘤的肿瘤-肌肉和肿瘤-血液比值分别为 25.6 ± 1.9 和 4.7 ± 1 。结果表明 [⁶⁴Cu]WL12 在注射 1 h 后,可以特异性检测肿瘤 PD-L1 的表达水平。

⁶⁸Ga 的半衰期与 WL12 多肽的生物半衰期相近,并且 ⁶⁸Ga 方便获取(⁶⁸Ge/⁶⁸Ga 发生器),方便临床工作人员的使用。2018 年,De Silva et al^[27] 用放射性核素 ⁶⁸Ga 标记 DOTAGA-WL12 多肽制备了 ⁶⁸Ga 标记的多肽小分子 PET 探针 [⁶⁸Ga]WL12。生物分布实验表明,在所有不同时间点的测试中, [⁶⁸Ga]WL12 在 hPD-L1 肿瘤中的摄取值是对照组的 9 倍。在注射 15、60、120 min 时, hPD-L1 肿瘤的每克组织百分注射剂量率(% ID/g) 分别为 19.4 ± 3.3 、 11.56 ± 3.18 、 9.89 ± 1.72 ; 而对照组肿瘤在注射 15、60、120 min 时, % ID/g 均小于 1.33 ± 0.21 。相比于 [⁶⁴Cu]WL12, [⁶⁸Ga]WL12 制备方便、具有更适于临床应用的生物半衰期。

¹⁸F 来源于回旋加速器,实用性更强,更适用于 PET 成像特性。2019 年,Lesniak et al^[28] 使用 [¹⁸F]FPy-TFP 作为放射性辅基通过与 WL12 鸟氨酸侧链氨基形成酰胺键,从而制备了 ¹⁸F 标记的多肽小分子 PET 探针 [¹⁸F]FPy-WL12。PET-CT 图像显示,在放射性示踪剂注射 10、30 和 60 min 后, hPD-L1 肿瘤中 [¹⁸F]FPy-WL12 的摄取值与对照组 CHO 相比显著增加。在注射 10、60、120 min 时, hPD-L1 肿瘤的 % ID/g 分别为 5.23 ± 1.11 、 7.16 ± 1.67 、 8.86 ± 10.2 ; 而对照组肿瘤 % ID/g 均小于 1.77 ± 0.21 。然而研究发现肝脏和肾脏对 [¹⁸F]FPy-WL12 摄取率较高。

2022 年, Zhou et al^[29] 利用 ⁶⁸Ga 标记的多肽小

分子 WL12 制备了 PET 探针 ⁶⁸Ga-NOTA-WL12, 同时进行了人体研究,结果表明,在体外和体内 PD-L1 表达阳性肿瘤中,均表现特异性摄取 ⁶⁸Ga-NOTA-WL12; 生物分布实验表明, ⁶⁸Ga-NOTA-WL12 主要分布在肝、脾、小肠和肾; 在注射 1 h 后,肿瘤清晰可见,尤其是肺, 1 h 时肿瘤/肺比值为 4.45 ± 1.89 。

4.2 核素标记的有机小分子 PET 探针 近年来,随着小分子抑制剂与 PD-1/PD-L1 蛋白作用模式的研究,越来越多的分子(磺酰胺类、联苯类、噁二唑类、苄基醚类等)已经用于抑制免疫检查点 PD-1/PD-L1 的结合^[30]。

2015 年,美国百时美施贵宝公司在申请的专利中披露了具有抑制 PD-1/PD-L1 结合活性的联苯类化合物^[31]。受此启发,2020 年, Miao et al^[32] 合成了结构上类似于 BMS-1166 的化合物 LN2。通过铜催化的炔基和叠氮的点击反应(Husigen 环加成反应)将硼氨酸引入到化合物 LN2 中,制备成含硼氨酸 LN。最后,基于 ¹⁸F-¹⁹F 同位素交换制备成有机小分子 PET 探针 [¹⁸F]LN。实验结果表明, [¹⁸F]LN 与 PD-L1 具有较强亲和力($K_d = 65.27 \pm 3.47 \text{ nmol/L}$)。同时在建立的 PD-L1 阳性(A375-hPD-L1)和 PD-L1 阴性(A375)的荷瘤鼠模型中显像。结果表明,在注射 15 min 后,在 PD-L1 阳性(A375-hPD-L1)的荷瘤鼠肿瘤摄取值为 $(1.96 \pm 0.27) \% \text{ ID/g}$; 在 PD-L1 阴性(A375)和阻断组的荷瘤鼠肿瘤摄取值分别为 $(0.89 \pm 0.31) \% \text{ ID/g}$ 和 $(1.07 \pm 0.26) \% \text{ ID/g}$ 。研究分析,通过点击反应引入亲脂性的 AMBF₃ 降低了探针对 PD-L1 的亲和力,从而造成非靶器官的非特异性摄取。

为了改善探针的亲水性,2021 年, Lv et al^[33] 基于醛和羟胺缩合策略,使用 [¹⁸F]FDG 代替 AMBF₃ 作为标记辅基标记有机小分子 L7 制备了 [¹⁸F]LG-1。 [¹⁸F]FDG 结构的引入显著提高了 [¹⁸F]LG-1 的水溶性,其 Log Do/w 比 [¹⁸F]LN 低 4.8 倍。体外实验表明, PD-L1 表达阳性细胞(A375-hPD-L1)摄取明显高于 PD-L1 表达阴性细胞(A375)。体内动态

PET 图像表明,在注射 60 min 后,在 PD-L1 阳性 (A375-hPD-L1) 的荷瘤鼠肿瘤摄取值是 PD-L1 阴性 (A375) 荷瘤鼠肿瘤的 2.6 倍。总之, ^{18}F ILG-1 是一种潜在的靶向 PD-L1 的有机小分子 PET 探针。

5 总结和展望

研究^[4]表明有创的 IHC 在检测 PD-1/PD-L1 表达水平方面存在局限性: ① 检测阈值不同; ② 容易受到干扰素、淋巴细胞趋化因子和前期治疗等因素影响; ③ 无法实时、重复和动态监测 PD-1/PD-L1 表达。靶向 PD-1/PD-L1 免疫检查点 PET 探针可以高效地实现活体检测 PD-1/PD-L1 表达水平。相比于抗体类 PET 探针,小分子 PET 探针具有生物体内半衰期短、化学稳定性好、无免疫原性和成本廉价等优点。然而,PD-1 与 PD-L1 接触的界面具有高度平坦且疏水的结构,没有小分子结合的合适位点,导致 PD-1/PD-L1 免疫检查点小分子抑制剂研究进展缓慢。由于缺乏高活性的 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂,使得靶向免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子 PET 探针的研究进展更加缓慢。

参考文献

- [1] Sharma P, Allison J P. The future of immune checkpoint therapy [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 56–61.
- [2] 陶天柱, 张国荣, 杨晓明, 等. 免疫检查点 VISTA 分子脓毒症小鼠免疫炎症反应的调节作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(2): 193–20.
- [3] 吴婧婧, 黄琦, 孙妮妮, 等. 原发性肝细胞癌免疫治疗药物的临床药理研究进展 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(11): 1842–6.
- [4] Patel S P, Kurzrock R. PD-L1 Expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(4): 847–56.
- [5] Wierstra P, Sandker G, Aarntzen E, et al. Tracers for non-invasive radionuclide imaging of immune checkpoint expression in cancer [J]. *EJNMMI Radiopharm Chem*, 2019, 4(1): 29.
- [6] Topalian S L, Taube J M, Anders R A, et al. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(5): 275–87.
- [7] Pandit-Taskar N, Postow M A. Immune-directed molecular imaging biomarkers [J]. *Semin Nucl Med*, 2020, 50(6): 584–603.
- [8] Nishino M, Ramaiya N H, Hatabu H, et al. Monitoring immune-checkpoint blockade: response evaluation and biomarker development [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(11): 655–68.
- [9] Cho D C, Sosman J A, Sznol M, et al. Clinical activity, safety, and biomarkers of MPDL3280A, an engineered PD-L1 antibody in patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC) [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(15): 4505.
- [10] Garon E B, Rizvi N A, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21): 2018–28.
- [11] Bouleau A, Lebon V, Truillet C. PET imaging of immune checkpoint proteins in oncology [J]. *Pharmacol Therapeut*, 2021, 222: 107786.
- [12] Mukai H, Watanabe Y. Review: PET imaging with macro- and middle-sized molecular probes [J]. *Nucl Med Biol*, 2021, 92: 156–70.
- [13] Broos K, Lecocq Q, Raes G, et al. Noninvasive imaging of the PD-1: PD-L1 immune checkpoint: Embracing nuclear medicine for the benefit of personalized immunotherapy [J]. *Theranostics*, 2018, 8(13): 3559–70.
- [14] Lesniak W G, Chatterjee S, Gabrielson M, et al. PD-L1 detection in tumors using ^{64}Cu Atezolizumab with PET [J]. *Bioconjug Chem*, 2016, 27(9): 2103–10.
- [15] Ehlerding E B, Lee H J, Barnhart T E, et al. Noninvasive imaging and quantification of radiotherapy-induced PD-L1 upregulation with ^{89}Zr -Df-Atezolizumab [J]. *Bioconjugate Chem*, 2019, 30(5): 1434–41.
- [16] Jagoda E M, Vasalatiy O, Basuli F, et al. Immuno-PET imaging of the programmed cell death-1 ligand (PD-L1) using a zirconium-89 labeled therapeutic antibody, avelumab [J]. *Mol Imaging*, 2019, 18: 1–14.
- [17] Donnelly D J, Smith R A, Morin P, et al. Synthesis and biologic evaluation of a novel ^{18}F -labeled adnectin as a PET radioligand for imaging PD-L1 expression [J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(3): 529–35.
- [18] Stutvoet T S, van der Veen E L, Kol A, et al. Molecular imaging of PD-L1 expression and dynamics with the adnectin-based PET tracer ^{18}F -BMS-986192 [J]. *J Nucl Med*, 2020, 61(12): 1839–44.
- [19] Natarajan A, Mayer A T, Reeves R E, 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): 903–14.
- [20] England C G, Jiang D, Ehlerding E B, et al. ^{89}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): 110–20.
- [21] Huang H, Zhu H, Xie Q, et al. Evaluation of ^{124}I -JS001 for hPDL1 immuno-PET imaging using sarcoma cell homografts in humanized mice [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(7): 1321–30.
- [22] Du Y, Liang X, Li Y, et al. Nuclear and fluorescent labeled PD-1-liposome-DOX- ^{64}Cu /IRDye800CW allows improved breast tumor targeted imaging and therapy [J]. *Mol Pharmaceutics*, 2017, 14(11): 3978–86.
- [23] Donnelly D J, Smith R A, Morin P, et al. Synthesis and biological evaluation of a novel ^{18}F -labeled adnectin as a PET radioligand for imaging PD-L1 expression [J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(3): 529–35.

- [24] Yang J, Hu L. Immunomodulators targeting the PD-1/PD-L1 protein-protein interaction: from antibodies to small molecules [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(1): 265–301.
- [25] Shaabani S, Huizinga H P S, Butera R, et al. A patent review on PD-1/PD-L1 antagonists: small molecules, peptides, and macrocycles (2015–2018) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2018, 28(9): 665–78.
- [26] Chatterjee S, Lesniak W G, Miller M S, et al. Rapid PD-L1 detection in tumors with PET using a highly specific peptide [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483(1): 258–63.
- [27] De Silva R A, Kumar D, Lisok A, et al. Peptide-based ^{68}Ga -PET radiotracer for imaging PD-L1 expression in cancer [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(9): 3946–52.
- [28] Lesniak W G, Mease R C, Chatterjee S, et al. Development of [^{18}F]FPy-WL12 as a PD-L1 specific PET imaging peptide [J]. *Mol Imaging*, 2019, 18: 1536012119852189.
- [29] Zhou X, Jiang J Q, Yang X, et al. First-in-human evaluation of a PD-L1-binding peptide radiotracer in non-small cell lung cancer patients with PET [J]. *J Nucl Med*, 2022, 63(4): 536–42.
- [30] Sasikumar P G, Ramachandra M. Small-molecule immune checkpoint inhibitors targeting PD-1/PD-L1 and other emerging checkpoint pathways [J]. *Bio Drugs*, 2018, 32(5): 481–97.
- [31] Guzik K, Zak K M, Grudnik P, et al. Small-molecule inhibitors of the programmed cell death-1/programmed death-ligand 1 (PD-1/PD-L1) interaction *via* transiently induced protein states and dimerization of PD-L1 [J]. *J Med Chem* 2017 60(13): 5857–67.
- [32] Miao Y, Lv G, Chen Y, et al. One-step radiosynthesis and initial evaluation of a small molecule PET tracer for PD-L1 imaging [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30(24): 127572.
- [33] Lv G, Miao Y, Chen Y, et al. Promising potential of a ^{18}F -labelled small-molecular radiotracer to evaluate PD-L1 expression in tumors by PET imaging [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 115: 105294.
- (上接第 336 页)
- iol Cell Physiol*, 2017, 313(5): C516–32.
- [40] Flores B, Schornak C C, Delpire E. A role for KCC3 in maintaining cell volume of peripheral nerve fibers [J]. *Neurochem Int*, 2019, 123: 114–24.
- [41] Shekarabi M, Salin-Cantegrel A, Laganière J, et al. Cellular expression of the K^+/Cl^- cotransporter KCC3 in the central nervous system of mouse [J]. *Brain Res*, 2011, 1374: 15–26.
- [42] Delpire E, Kahle K T. The KCC3 cotransporter as a therapeutic target for peripheral neuropathy [J]. *Expert Opin Ther Target*, 2017, 21(2): 113–6.
- [43] Flores B, Delpire E. Osmotic response of dorsal root ganglion neurons expressing wild-type and mutant KCC3 transporters [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2020, 54(4): 577–90.
- [44] Chew T A, Zhang J, Feng L. High-resolution views and transport mechanisms of the NKCC1 and KCC transporters [J]. *J Mol Biol*, 2021, 433(16): 167056.
- [45] Han W, Shepard R D, Lu W. Regulation of GABA(A) Rs by transmembrane accessory proteins [J]. *Trends Neurosci*, 2021, 44(2): 152–65.
- [46] Lucas O, Hilaire C, Delpire E, et al. KCC3-dependent chloride extrusion in adult sensory neurons [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2012, 50(3–4): 211–20.
- [47] Byun N, Delpire E. Axonal and periaxonal swelling precede peripheral neurodegeneration in KCC3 knockout mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 28(1): 39–51.
- [48] Adragna N C, Ravilla N B, Lauf P K, et al. Regulated phosphorylation of the K-Cl cotransporter KCC3 is a molecular switch of intracellular potassium content and cell volume homeostasis [J]. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 255.
- [49] Mayes-Hopfinger L, Enache A, Xie J, et al. Chloride sensing by WNK1 regulates NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4546.
- [50] Zhang J, Cordshagen A, Medina I, et al. Staurosporine and NEM mainly impair WNK-SPAK/OSR1 mediated phosphorylation of KCC2 and NKCC1 [J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0232967.
- [51] Shekarabi M, Zhang J, Khanna A R, et al. WNK kinase signaling in ion homeostasis and human disease [J]. *Cell Metab*, 2017, 25(2): 285–99.
- [52] Pleinis J M, Norrell L, Akella R, et al. WNKs are potassium-sensitive kinases [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 320(5): C703–21.
- [53] Maruyama J, Kobayashi Y, Umeda T, et al. Osmotic stress induces the phosphorylation of WNK4 Ser575 *via* the p38MAPK-MK pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18710.
- [54] Elvers K T, Lipka-Lloyd M, Trueman R C, et al. Structures of the human SPAK and OSR1 conserved C-terminal (CCT) domains [J]. *Chembiochem*, 2022, 23(1): e202100441.
- [55] Akella R, Humphreys J M, Sekulski K, et al. Osmosensing by WNK kinases [J]. *Mol Biol Cell*, 2021, 32(18): 1614–23.
- [56] Begum G, Yuan H, Kahle K T, et al. Inhibition of WNK3 kinase signaling reduces brain damage and accelerates neurological recovery after stroke [J]. *Stroke*, 2015, 46(7): 1956–65.
- [57] Zhang J, Gao G, Begum G, et al. Functional kinomics establishes a critical node of volume-sensitive cation- Cl^- cotransporter regulation in the mammalian brain [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35986.
- [58] Josiah S S, Meor Azlan N F, Zhang J. Targeting the WNK-SPAK/OSR1 pathway and cation-chloride cotransporters for the therapy of stroke [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1232.
- [59] Zhang J, Bhuiyan M I H, Zhang T, et al. Modulation of brain cation- Cl^- cotransport *via* the SPAK kinase inhibitor ZT-1a [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 78.
- [60] Tao D, Liu F, Sun X, et al. Bumetanide: A review of its neuroplasticity and behavioral effects after stroke [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2019, 37(4): 397–407.
- [61] van Tuijl J H, van Raak E P M, van Oostenbrugge R J, et al. Treatment with diazepam in acute stroke prevents poststroke seizures: A substudy of the EGASIS trial [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2021, 50(2): 216–21.