

网络出版时间: 2024 - 07 - 22 11:03:12 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240722.0948.001>

全身动态¹⁸F-FDG PET/CT Patlak 多参数显像监测 PD-1 抗体联合放射治疗对小鼠 B16F10 黑色素瘤的协同作用及远隔效应

张金洲, 施慧敏, 张利亚, 苗璟璇, 朱 干, 赵学峰, 汪 会

摘要 目的 采用全身动态¹⁸F-脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层显像(¹⁸F-FDG PET/CT) Patlak 多参数显像技术, 监测和评价程序性死亡受体-1 (PD-1) 免疫检查点单抗与放射联合治疗的协同抗肿瘤效应。方法 建立 B16F10 黑色素瘤小鼠双瘤模型, 按照随机数字表法分为 4 组: 空白对照组、PD-1 单抗组、单纯放疗组、PD-1 单抗 + 放疗(联合治疗)组, 每组 6 只, 分别于治疗前和治疗完成后 24 h 对小鼠行全身动态¹⁸F-FDG PET/CT Patlak 多参数显像。显像完后之后, 分析比较四组肿瘤最大标准化摄取值(SUV_{max})、葡萄糖净摄取速率(MR_{FDG})的变化, 以颈椎脱臼的方法处死小鼠, 取出四组肿瘤进行苏木精-伊红(HE)染色及肿瘤浸润 T 淋巴细胞(CD8)、细胞核增殖抗原(Ki67)免疫组化分析肿瘤组织免疫细胞浸润情况及肿瘤组织增殖情况。治疗期间记录远端肿瘤体积变化情况。结果 治疗后 24 h, 原位肿瘤中, 空白对照组 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 值较治疗前升高($P < 0.0001$), 联合治疗组 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 值较治疗前降低($P < 0.0001$); 远端肿瘤中, 空白对照组、PD-1 单抗组、单纯放疗组 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 值较治疗前升高, 但仅空白对照组治疗前后 SUV_{max} 差异有统计学意义($P < 0.001$), 远端肿瘤中 MR_{FDG} 值上述三组差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.0001$)。远端肿瘤联合治疗组 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 值较治疗前降低($P < 0.0001$)。远端肿瘤治疗后比较各组 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 值, 除单纯放疗组和 PD-1 单抗组外, 其余各组间 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 值差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。免疫组化结果显示, 远端肿瘤 CD8 T 淋巴细胞平均吸光度值高于其他三组($P < 0.001$); 远端肿瘤增殖指数 Ki-67 免疫组化平均吸光度值低于其他三组($P < 0.001$)。结论 联合治疗发挥出的协同作用可以降低远端肿瘤生长速度, 全身动态¹⁸F-FDG PET/CT Patlak 多参数显像能够作为 PD-1 抗体与放射联合治疗远隔效应对小鼠 B16F10 黑色素瘤的协同作用的监测方法, 可为优化联合治疗方案提供可靠的影像学评估参数, 对改善肿瘤患者预后具有重要意义。

关键词 全身动态 PET/CT; Patlak; SUV_{max}; MR_{FDG}; 联合治

疗; 远隔效应

中图分类号 R 730.5

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2024)08 - 1385 - 07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2024.08.014

肿瘤的免疫治疗与放射治疗联合应用, 可产生协同增强的抗肿瘤作用, 这为肿瘤的综合治疗提供了新的策略。程序性死亡受体 1/程序性死亡配体 1 (programmed death-1/programmed death-ligand 1, PD-1/PD-L1) 信号通路在包括黑色素瘤在内的多种肿瘤免疫微环境中发挥重要的免疫抑制作用^[1], 抗 PD-1 单抗可阻断这一途径, 增强机体的抗肿瘤免疫应答, 与放射治疗产生协同增效。放射治疗可以通过诱导免疫原性肿瘤细胞死亡和改变微环境, 增强系统性和局部免疫反应。远隔效应指放疗可引起远端未照射肿瘤的消退或控制, 这提示放疗激活的全身免疫反应不仅针对照射部位, 还可影响远处肿瘤^[2]。鉴于可增强治疗效果及控制肿瘤转移的潜力, 研究者对其高度关注。

然而目前仍缺乏有效的方法动态监测肿瘤在放射治疗与免疫治疗联合作用下的生物学变化。正电子发射计算机断层显像 (positron emission tomography/computed tomography, PET/CT) 是评估肿瘤代谢及治疗反应的重要影像技术^[3]。¹⁸F-脱氧葡萄糖(¹⁸F-Fluorodeoxy glucose, ¹⁸F-FDG) 作为最常用的显像示踪剂, 其 PET/CT 显像可定量评价肿瘤的葡萄糖摄取水平, 已经被广泛用于各种肿瘤的筛查、分期及治疗监测。而基于 Patlak 图分析多参数动态 PET 显像可提供肿瘤葡萄糖净摄取率 (metabolic rate of FDG, MR_{FDG}) 等反应葡萄糖磷酸化代谢率的重要生理参数, 能更全面反应功能状态^[4]。该研究通过小鼠 B16F10 黑色素双瘤模型, 探讨全身动态¹⁸F-FDG PET/CT Patlak 多参数显像监测和评价 PD-1 免疫治疗联合放疗产生的远隔效应。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与细胞株 小鼠 B16F10 黑色素瘤

2024 - 06 - 01 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81801736)

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: 张金洲, 男, 硕士研究生;

汪 会, 女, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:

wanghuixyx@163.com

细胞系来源于安徽医科大学核医学教研室。细胞系在 Roswell Park Memorial Institute 1640 培养基(RP-MI-1640) 中培养, 胎牛血清(FBS) 购自杭州四季青公司、青链霉素、0. 25% 胰酶、磷酸盐缓冲液(PBS) 购自北京索莱宝公司, 抗 CD8 抗体及肿瘤增殖指数 Ki-67 免疫组化试剂购自武汉塞维尔生物技术有限公司, 抗小鼠 PD-1 抗体(CD279) 购自美国 BIOCELL 公司。

1.2 动物实验 无特殊病原菌(SPF) C57BL/6 小鼠 24 只, 6~8 周雌性, 体质量 18~22 g, 购自杭州子源实验动物科技有限公司, 生产许可证号: SCXK(浙) 2019-0004, 健康状况良好, 所有动物操作均按照安徽医科大学动物实验机构动物护理和使用委员会(IACUC) 的指导原则(编号: LLSC20232073), 且也符合美国国立卫生研究院(NIH) 动物福利法案的规定。B16F10 细胞培养条件如上所述。细胞培养至对数生长期, 待细胞长满细胞培养瓶底 80% 时用 0. 25% 胰酶消化, 经过离心机离心弃上清液后, 用 PBS 制成 1.0×10^7 /ml 的单细胞悬液, 将 0. 1 ml 肿瘤细胞皮下接种在 C57BL/6 小鼠的两个大腿根部, 记录注射时间, 待肿瘤直径达到 8 mm 时开始治疗实验。

1.3 实验仪器 ^{18}F -FDG 购自江苏南京江源安迪科正电子研究发展有限公司, 放化纯度为 >95%, 显像采用德国西门子 Biograph Vision PET/CT 仪器。放射治疗采用美国 VARIN Vitallbeam 医用直线加速器。

1.4 实验分组及处理 将造模成功的 24 只荷瘤小鼠随机分为 4 组, 每组 6 只, 分别为空白对照组、PD-1 单抗组、单纯放疗组、PD-1 单抗 + 放疗(联合治疗) 组, 荷瘤小鼠模型左侧为原位肿瘤, 右侧为远端肿瘤。每组处理如下: ① 空白对照组, 每隔 2 d 腹腔注射 200 μg (0. 5 ml) 生理盐水, 共 3 次; ② PD-1 单抗组, 在植瘤的第 9、12、15 天以 10 ml/kg 的剂量腹腔注射抗小鼠 PD-1 抗体; ③ 单纯放疗组, 在植瘤的第 9、10、11 天以 8 Gy/次/天使用医用直线加速器进行原位肿瘤放射治疗, 源皮距 50 cm, 照射野为 2 cm $\times$ 2 cm, 远端肿瘤及其余部位用铅帽遮挡; ④ 联合治疗组, 在植瘤的第 9、12、15 天以 10 ml/kg 的剂量腹腔注射抗小鼠 PD-1 抗体, 同时在对应的日期使用与单纯放疗组相同的参数进行联合治疗。

1.5 全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT 显像 治疗前和治疗后 24 h 对空白对照组、PD-1 单抗组、单纯放疗组、联合治疗组进行全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT 显

像。在显像前, C57BL/6 小鼠禁食 8 h, 允许自由饮水。小鼠扫描前使用异氟醚麻醉并将其四肢固定, 呈俯卧, 并置于 PET/CT 扫描床上, 确保荷瘤鼠摆放位置位于扫描视野中心。首先进行全身 5 s 低剂量 CT 扫描作为小鼠解剖定位和 PET 参数的衰减校正(管电压 120 KV, 管电流 160 mA, 螺距 5. 0 mm)。随后将检查床移动到 PET 视野内, 通过尾静脉向小鼠注射 ^{18}F 标记的氟代脱氧葡萄糖(^{18}F -FDG) 5. 55 MBq, 同时开始心脏为中心的 6 min 动态单床 PET 扫描, 用于获得输入函数(input function, IF) 同时记录显像注射时间、注射前放射性活度以及注射后剩余放射性活度。随后进行 18 次全身 PET 扫描, 总动态扫描时间为 75 min。图像采集结束后, 利用迭代算法(迭代次数 4, 子集数 5, 矩阵 128 $\times$ 128) 对原始数据进行图像重建。然后勾画左心室作为感兴趣区(region of interest, ROI), 然后将 ROI 复制到每个时间帧得到输入函数, 通过 Patlak 图像分析方法获得最大示踪剂净流入速率常数(K_i), 根据公式 $\text{MR}_{\text{FDG}} = K_i \times \text{血糖浓度}$, 单位: $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{ml})$, 得到 MR_{FDG} 参数图。最后 3 帧动态图像作为最大标准化摄取值(standardized uptake value, SUV) (maximum SUV, SUV_{max}) 图像。

1.6 图像分析 扫描完成后由 2 位经验丰富的核医学科医师对图像进行分析, 选择肿瘤放射性浓聚程度最高的层面勾画 ROI, 测量肿瘤的 SUV_{max} 和 MR_{FDG} 值并对体质量的 SUV_{max} 和 MR_{FDG} 进行校正。

1.7 苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE 染色) 和免疫组织化学(IHC) 分析 治疗显像结束后, 采用颈椎脱臼法处死荷瘤鼠, 将肿瘤组织迅速分离出来, 用 4% 的多聚甲醛溶液将肿瘤组织完全浸泡固定, 修剪后用石蜡包埋, 4 μm 的厚度行 HE 染色, CD8、Ki-67 免疫组织化学检查。在高倍镜视野下每张切片随机取 5 个视野拍照, 使用 Image-Pro Plus 6. 0 软件对以上指标进行吸光度值进行分析。

1.8 统计学处理 使用 SPSS 26. 0 软件进行统计学分析。对所有符合正态分布的计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 四组荷瘤小鼠治疗前后肿瘤组织 SUV_{max} 和 MR_{FDG} 值比较采用配对 t 检验; 多组间比较用单因素方差分析及组间两两比较采用 LSD- t 检验。以 $P < 0. 05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT patlak 显像结果

植瘤 7 d 左右,24 只小鼠双侧大腿根部可见类圆形瘤体组织。全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT patlak 显像示,荷瘤小鼠双侧大腿根部类圆形显像剂摄取增高灶,与周围组织边界不清晰(图 1)。治疗前,各组原位肿瘤 $\text{SUV}_{\max}$ 和 MR_{FDG} 、远端肿瘤 $\text{SUV}_{\max}$ 和 MR_{FDG} 差异均无统计学意义。治疗后 24 h,原位肿瘤中,空白对照组 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值较治疗前升高($t = -30.29, P < 0.0001$; $t = -22.84, P < 0.0001$),联合治疗组 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值较治疗前降低($t = 64.88, P < 0.0001$; $t = 15.80, P < 0.0001$),差异有统计学意义;远端肿瘤中,空白对照组、PD-1 单抗组、单纯放疗组 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值较治疗前升高,仅空白对照组治疗前后比较 $\text{SUV}_{\max}$ 差异有统计学意义($t = -21.49, P < 0.0001$),单纯放疗组和 PD-1 单抗组治疗前后 $\text{SUV}_{\max}$ 差异无统计学意义($t = -2.512, P > 0.05$; $t = -2.561, P > 0.05$),远端肿瘤中 MR_{FDG} 值上述三组差异均有统计学意义($t = -20.60, P < 0.0001$; $t = -5.966, P < 0.01$; $t = -5.966, P < 0.01$);远端肿瘤联合治疗组 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值较治疗前降低,差异有统计学意义($t = 14.97, P < 0.0001$; $t = 20.60, P < 0.0001$) (表 1)。远端肿瘤治疗后比较各组 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值,除单纯放疗组和 PD-1 单抗组外,其余各组间 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。联合治疗组可降低肿瘤的 $\text{SUV}_{\max}$ 及 MR_{FDG} 值($F_{\text{SUV}_{\max}} = 19.88, P < 0.001$; $F_{\text{MR}_{\text{FDG}}} = 31.73, P < 0.001$)。见图 2。

2.2 各治疗组对肿瘤生长的抑制作用 计算并绘制远端肿瘤各治疗组随时间的肿瘤增长曲线。与空白对照组比较,PD-1 单抗组和单纯放疗组可以抑制肿瘤生长,且联合用药组抑制作用更明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3。

2.3 病理学检测结果 在肿瘤与周围皮肤分离后,肿瘤细胞显示出浸润性生长模式,与周围组织的边界不清楚。这些肿瘤细胞的特点是体积较大,细胞质丰富,细胞核深染,核仁明显,某些细胞中可见有丝分裂像。HE 染色显示,在对照组中,肿瘤细胞表现出大而深染的细胞核,密集排列和显著的细胞多形性。在联合治疗组中,肿瘤细胞密度显著降低,并观察到局部坏死区域。如图 4 所示,肿瘤细胞显示出更松散的排列模式,可能指示肿瘤坏死区域。免疫细胞浸润进行免疫组织化学分析以评估肿瘤微环境中的免疫细胞浸润。各组中代表 T 淋巴细胞的 CD8 细胞的吸光度值为(7.887 ± 0.375)、(16.740

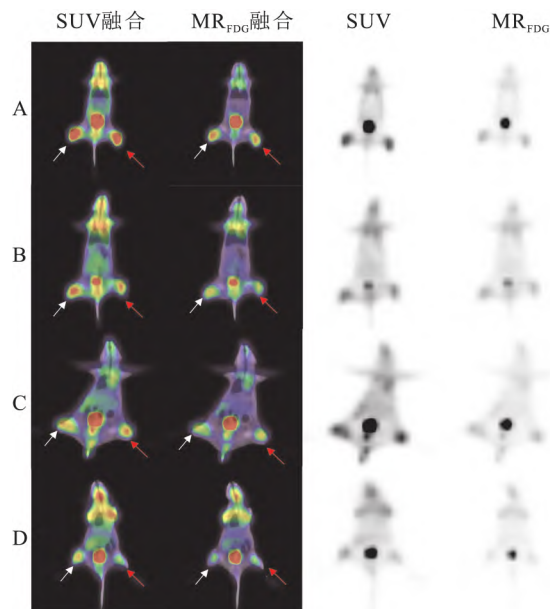


图 1 治疗后 24 h 4 组的全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT Patlak 显像比较

A: 空白对照组; B: PD-1 单抗组; C: 单纯放疗组; D: 联合治疗组; 红色箭头: 荷瘤小鼠模型左侧原位肿瘤; 白色箭头: 右侧远端肿瘤

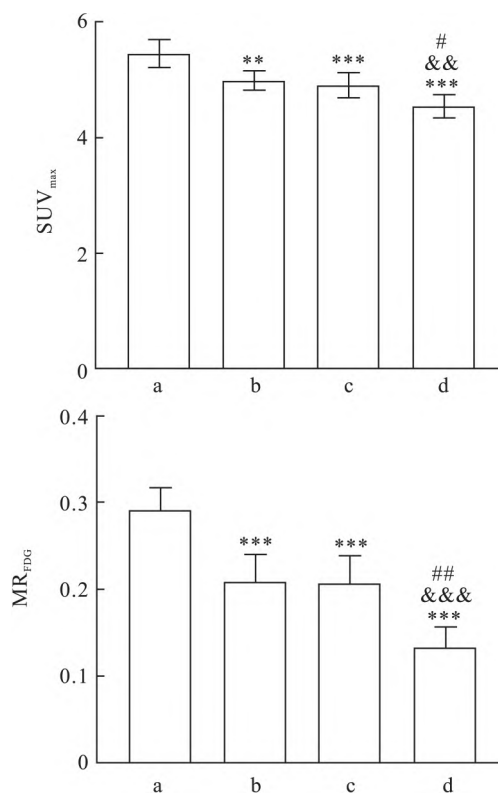


图 2 ^{18}F -FDGPET/CT 远端肿瘤多参数成像治疗后各组间比较

a: 空白对照组; b: PD-1 单抗组; c: 单纯放疗组; d: 联合治疗组; 与空白对照组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 PD-1 单抗组比较: && $P < 0.01$, &&& $P < 0.001$; 与单纯放疗组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

表1 治疗前后双侧肿瘤 SUV_{max} 和 MR_{FDG} 的变化($n=6, \bar{x} \pm s$)

项目	原位肿瘤			远端肿瘤		
	治疗前	治疗后	P 值	治疗前	治疗后	P 值
SUV_{max}						
空白对照组	4.775 ± 0.202	5.418 ± 0.205	<0.000 1	4.778 ± 0.171	5.457 ± 0.239	<0.000 1
PD-1 组	4.802 ± 0.145	4.525 ± 0.234	0.003	4.751 ± 0.328	4.987 ± 0.167	0.054
单纯放疗组	4.797 ± 0.108	4.403 ± 0.158	<0.000 1	4.702 ± 0.319	4.905 ± 0.220	0.051
联合治疗组	4.768 ± 0.167	3.717 ± 0.184	<0.000 1	4.752 ± 0.169	4.548 ± 0.189	<0.000 1
MR_{FDG}						
空白对照组	0.198 ± 0.031	0.290 ± 0.025	<0.000 1	0.193 ± 0.034	0.292 ± 0.025	<0.000 1
PD-1 组	0.190 ± 0.026	0.160 ± 0.019	<0.000 1	0.190 ± 0.027	0.208 ± 0.032	0.002
单纯放疗组	0.201 ± 0.024	0.152 ± 0.021	<0.000 1	0.188 ± 0.031	0.207 ± 0.031	0.002
联合治疗组	0.192 ± 0.035	0.072 ± 0.015	<0.000 1	0.200 ± 0.024	0.133 ± 0.023	<0.000 1

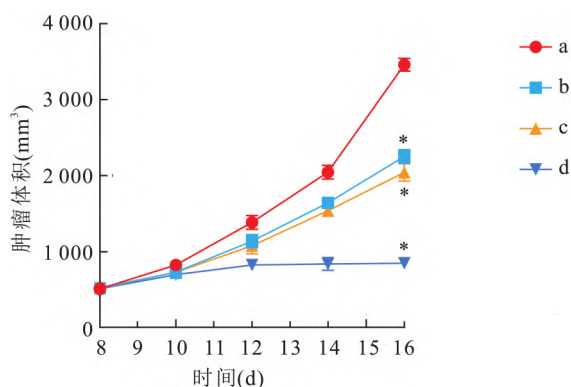


图3 远端肿瘤生长曲线

a: 空白对照组; b: PD-1 组; c: 单纯放疗组; d: 联合治疗组; 与空白对照组比较: * $P < 0.05$

± 0.465)、 (17.760 ± 0.484) 、 (32.340 ± 0.966) , 联合治疗组 CD8 细胞的吸光度值最高, 各组间差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。CD8 T 细胞浸润的增加表明治疗组的抗肿瘤免疫反应增强。细胞增殖核抗原 Ki-67 是细胞增殖的标志, 对评估肿瘤患者的存活率有重要意义。Ki-67 免疫组化染色结果显示, 各组中代表 Ki-67 吸光度值为 (63.030 ± 1.909) 、 (42.050 ± 1.801) 、 (43.070 ± 1.266) 、 (26.900 ± 1.652) , 联合治疗组 Ki-67 的吸光度值下降最多, 各组间差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。如图 5 所示, 远端肿瘤治疗后各组 MR_{FDG} 与 CD8 和 Ki-67 的相关性分别为 ($r = -0.824, P < 0.001$; $r = 0.906, P < 0.001$), 治疗后各组 SUV_{max} 与 CD8 和 Ki-67 的相关性分别为 ($r = -0.735, P < 0.001$; $r = 0.843, P < 0.001$), MR_{FDG} 与 CD8 和 Ki-67 的相关性系数高于 SUV_{max} 。

3 讨论

近年来, 癌症治疗策略取得了显著的进步, 特别

是随着免疫疗法与放射疗法的结合, 灵敏的非侵入性疗效监测方法对于优化治疗方案和改善预后具有重要意义。作为一种新兴的治疗方法, 联合放疗和免疫治疗的作用不同于传统疗法, 迫切需要新的影像技术来辅助疗效评估^[8]。

有研究^[9]表明, ^{18}F -FDG PET/CT 是监测免疫疗法的相对可靠的工具, 也是检测黑色素瘤转移疾病的选择性成像技术。 ^{18}F -FDG PET/CT 作为一种分子成像模式的作用受到了越来越多的关注, 因为它可以在形态学变化发生之前在代谢水平检测治疗效果。

传统的半定量指标 SUV 用于测量注射活度和体质量校正的感兴趣体积 (VOI) 内的组织活动。组织的 SUV 计算只需要示踪剂达到平衡状态时的静态成像, SUV 包括了糖代谢高亲和力的游离的 FDG (DV_{FDG}) 和代谢的 FDG (MR_{FDG})^[10]。除了不能区分游离的和代谢的 FDG, SUV 的半定量很容易被血糖、扫描时间、重建参数和炎症状态的可变性所混淆。这导致特异性和敏感性降低以及虚假的摄取增加^[8]。相比之下, 全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT Patlak 多参数成像参数的获取需要使用动力学模型, 即房室模型, 左心室作为 ROI, 然后将 ROI 复制到每个时间帧得到输入函数, 通过 Patlak 图像分析方法获得最大示踪剂净流入速率常数 (K_{imax}), 从而得到 MR_{FDG} 参数图^[8]。因此, 在全身动态 PET/CT 多参数成像中使用 Patlak 图分析不仅实现并可能超过传统标准 SUV 成像的病变检测能力, 而且有助于降低常规肿瘤学应用中的假阳性率。

本研究结果表明, 治疗后联合治疗组原位肿瘤和远端肿瘤 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 均下降, 减少了对 ^{18}F -FDG 的摄取, 说明联合治疗后肿瘤细胞活性受到抑制, 导致放射性摄取降低; 远端肿瘤摄取同样减少说明了远隔效应的存在, 未照射的远端肿瘤也得到了

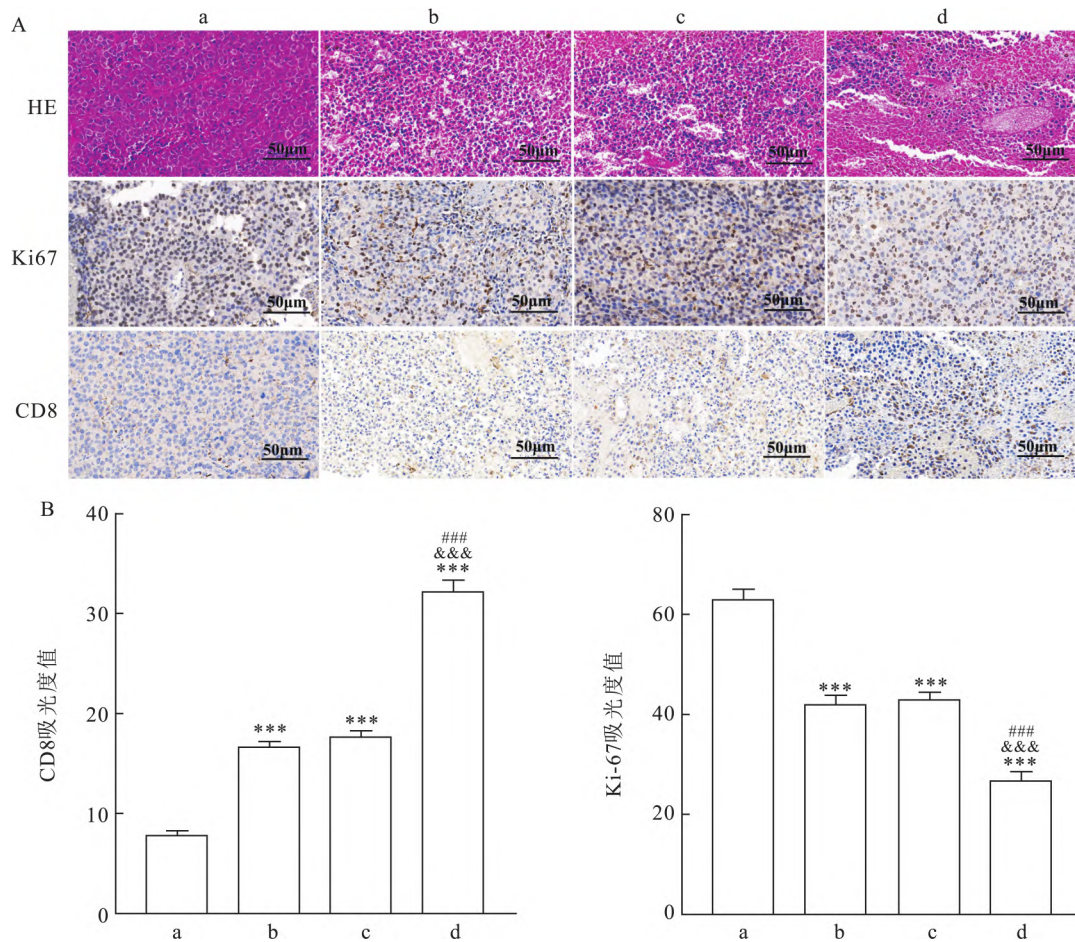


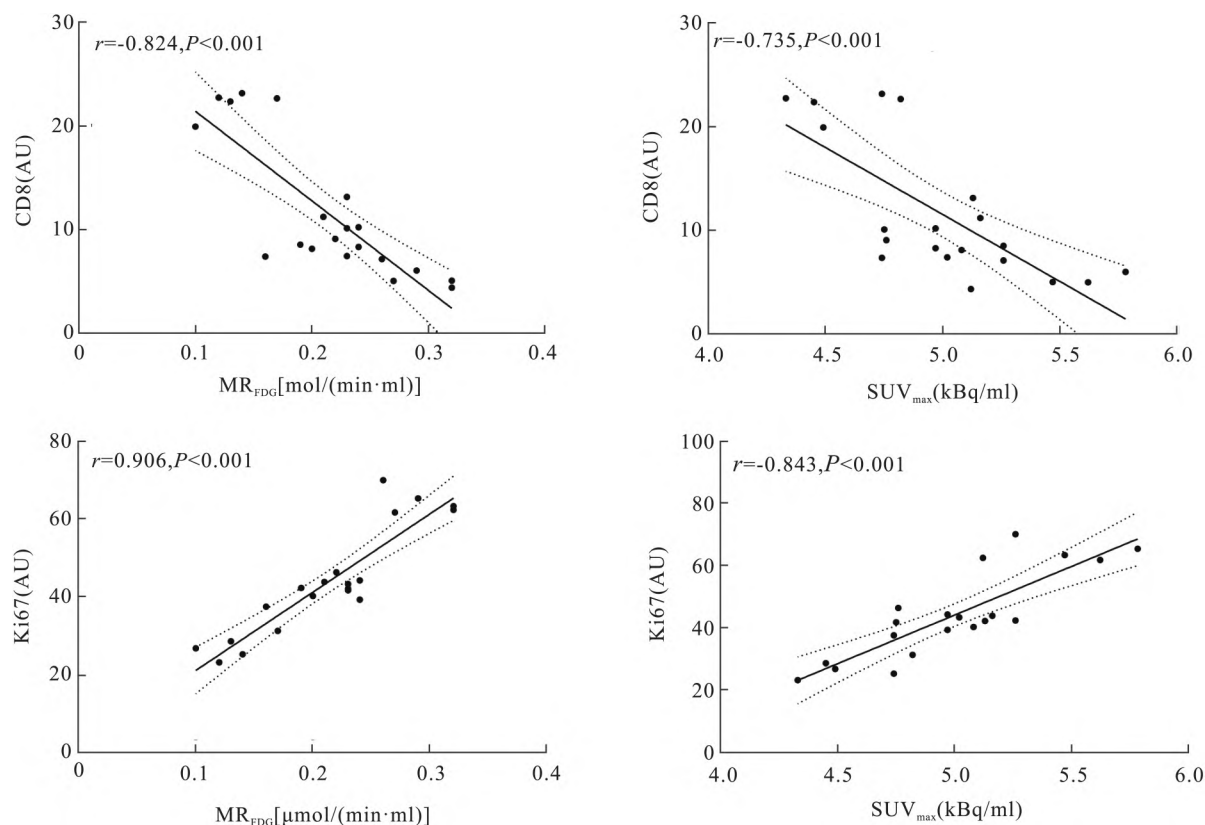
图4 四组 HE 染色和免疫组织化学分析结果

A: HE 染色和免疫组织化学检查表达图 $\times 200$; B: HE 染色和免疫组织化学结果分析柱状图; a: 空白对照组; b: PD-1 组; c: 单纯放疗组; d: 联合治疗组; 与空白对照组比较: *** $P < 0.001$; 与 PD-1 组比较: &&& $P < 0.001$; 与单纯放疗组比较: ### $P < 0.001$

有效治疗; 治疗后远端肿瘤体积增长缓慢, 联合治疗组增长最缓慢; 联合治疗组治疗后 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 均降低, 说明治疗后肿瘤活性受到抑制, 也说明 SUV_{max} 及 MR_{FDG} 可以在肿瘤体积变化前监测代谢相关指标变化。治疗后远端肿瘤 SUV_{max} 在 PD-1 单抗组和单纯放疗组稍升高, 差异无统计学意义; 相比之下, 治疗后 MR_{FDG} 在 PD-1 单抗组和单纯放疗组稍升高, 其治疗前后差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。此结果表明, 与传统半定量指标 SUV_{max} 相比, 全身动态 ^{18}F -FDG PET/CT Patlak 多参数显像可以更精确监测治疗组对肿瘤的生长抑制作用, 其 MR_{FDG} 比 SUV_{max} 灵敏度更高, 可以动态监测肿瘤的代谢响应。

研究^[14]表明, B16F10 细胞中的 PD-L1 被活化的 CD8⁺ T 细胞刺激强烈诱导, 并且 PD1/PD-L1 阻断 B16F10 细胞产生有效的抗肿瘤作用。PD-1 通过与 PD-L1 结合对细胞免疫进行负性调控, 导致抗肿

瘤的效应 T 细胞(主要为 CD8)失去功能, 联合治疗后, 肿瘤微环境得到改变, 肿瘤浸润淋巴细胞(CD8)被激活, 暴露肿瘤抗原, 招募聚集淋巴细胞, 杀死肿瘤细胞^[1]。本研究免疫组化分析显示, 与空白对照组相比, 联合治疗组 CD8 细胞的吸光度值最高。CD8 细胞在肿瘤细胞识别和清除中起着至关重要的作用, CD8 细胞浸润的增加表明治疗组中细胞毒性免疫反应的激活和肿瘤细胞杀伤的增强。Ki-67 是细胞增殖的标志, 在细胞增殖中起重要作用^[12]。Ki-67 在评估早期肿瘤的预后、指导联合治疗和优化治疗方案中发挥着重要作用。本研究免疫组化分析显示, 与对照组相比, 联合治疗组 Ki-67 的吸光度值最低, Ki-67 基因的表达水平降低表明联合治疗改善了肿瘤免疫微环境。 MR_{FDG} 与免疫组化呈强相关, 进一步表明 ^{18}F -FDG PET/CT 显像在反映肿瘤细胞葡萄糖代谢和增殖能力方面的优势。

图5 MR_{FDG}、SUV_{max}与CD8、Ki67相关性分析

综上所述,作为 SUV_{max} 的补充,全身动态¹⁸F-FDG PET/CT Patlak 多参数显像可以作为 PD-1 抗体与放射联合治疗远隔效应对小鼠 B16F10 黑色素瘤的协同作用的监测方法,比传统 SUV 的灵敏度更高,这为优化联合治疗方案提供可靠的影像学评估参数以及对改善肿瘤患者预后具有重要意义。后续可继续验证乏氧、凋亡等新型分子探针作用,放疗和免疫治疗协同作用的机制也值得进一步探索。

参考文献

- [1] Tsuruta A, Shiiba Y, Matsunaga N, et al. Diurnal expression of PD-1 on tumor-associated macrophages underlies the dosing time-dependent antitumor effects of the PD-1/PD-L1 inhibitor BMS-1 in B16/BL6 melanoma-bearing mice [J]. *Mol Cancer Res*, 2022, 20(6): 972–82.
- [2] Postow M A, Callahan M K, Barker C A, et al. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(10): 925–31.
- [3] Zaker N, Haddad K, Faghihi R, et al. Direct inference of Patlak parametric images in whole-body PET/CT imaging using convolutional neural networks [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 49(12): 4048–63.
- [4] Zhang L, Zhang J, Miao J, et al. Characteristics of whole-body dynamic ¹⁸F-FDG PET/CT Patlak multi-parametric imaging in lung cancer and the influence of different delineation methods on quantitative parameters [J]. *Quant Imaging Med Surg*, 2024, 14(1): 291–304.
- [5] Sachpekidis C, Anwar H, Winkler J K, et al. Longitudinal studies of the ¹⁸F-FDG kinetics after ipilimumab treatment in metastatic melanoma patients based on dynamic FDG PET/CT [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(8): 1261–70.
- [6] Sachpekidis C, Hassel J C, Kopp-Schneider A, et al. Quantitative dynamic ¹⁸F-FDG PET/CT in survival prediction of metastatic melanoma under PD-1 inhibitors [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(5): 1019.
- [7] 蔡可, 张晴晴, 余文静, 等. 全身动态(¹⁸F)-FDG PET/CT Patlak 显像评价大鼠胶质瘤放疗增敏早期疗效 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(7): 1088–93.
- [8] Zaker N, Kotasidis F, Garibotto V, et al. Assessment of lesion detectability in dynamic whole-body PET imaging using compartmental and patlak parametric mapping [J]. *Clin Nuc Med*, 2020, 45(5): e221–31.
- [9] Van Sluis J, van Snick J H, Brouwers A H, et al. Shortened duration whole body ¹⁸F-FDG PET Patlak imaging on the biograph vision quadra PET/CT using a population-averaged input function [J]. *EJNMMI Phys*, 2022, 9(1): 74.
- [10] Baba K, Nomura M, Ohashi S, et al. Experimental model for the irradiation-mediated abscopal effect and factors influencing this

- effect [1]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(2): 440–53.
- [1] Sakatani T, Kita Y, Fujimoto M, et al. IFN- γ expression in the tumor microenvironment and CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic markers in urothelial cancer patients receiving pembrolizumab [2]. *Cancers*, 2022, 14(2): 263.
- [2] Morris V K, Kennedy E B, Baxter N N, et al. Treatment of metastatic colorectal cancer: ASCO Guideline [3]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(3): 678–700.

The use of whole-body dynamic ^{18}F -FDG PET/CT Patlak multiparametric imaging to monitor the synergistic effect and distant effect of PD-1 antibody combined with radiotherapy in the treatment of B16F10 melanoma in mice

Zhang Jinzhou, Shi Huimin, Zhang Liya, Miao Jingxuan, Zhu Gan, Zhao Xuefeng, Wang Hui
(Dept of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To monitor and evaluate the synergistic antitumor effects of programmed death-1 (PD-1) checkpoint inhibitor combined with radiation therapy through whole-body dynamic ^{18}F -Fluorodeoxy glucose positron emission computed tomography (^{18}F -FDG PET/CT) and Patlak multi-parametric analysis. **Methods** B16F10 melanoma dual-tumor mouse model was established and randomly divided into control, PD-1 monoclonal antibody, radiation-only, and combination groups ($n=6$). Whole-body ^{18}F -FDG PET/CT imaging was performed before and 24 hours post-treatment. The changes of maximum standardized uptake value ($\text{SUV}_{\max}$) and metabolic rate of FDG (MR_{FDG}) changes were analyzed and compared. Mice were then euthanized, tumors excised and underwent histopathology with HE, CD8, Ki-67 staining to assess immune infiltration and proliferation. Distal tumor volumes were monitored during treatment. **Results** At 24 hours post-treatment, in the primary tumors, $\text{SUV}_{\max}$ and MR_{FDG} values increased compared to pre-treatment in the control group ($P<0.0001$), while they decreased in the combination treatment group ($P<0.0001$), with statistically significant differences. In the distal tumors, $\text{SUV}_{\max}$ and MR_{FDG} values increased compared to pre-treatment in the control group, PD-1 monoclonal antibody group, and radiotherapy-alone group. The $\text{SUV}_{\max}$ differences were statistically significant in the control group before and after treatment ($P<0.0001$). MR_{FDG} values in the distal tumors showed statistically significant differences in all three groups ($P<0.01$ or $P<0.0001$). In the combination treatment group, $\text{SUV}_{\max}$ and MR_{FDG} values in the distal tumors decreased significantly compared to pre-treatment ($P<0.0001$). Post-treatment comparison of $\text{SUV}_{\max}$ and MR_{FDG} values in the distal tumors showed that statistically significant differences in $\text{SUV}_{\max}$ and MR_{FDG} values were observed among all groups except between the radiotherapy-alone and PD-1 monoclonal antibody groups (all $P<0.05$). Immunohistochemistry results showed that the mean absorbance value of CD8 T lymphocytes in the distal tumor was significantly higher than that in the other three groups ($P<0.001$); the mean absorbance value of Ki-67 immunohistochemistry in the distal tumor proliferation index was significantly lower than that in the other three groups ($P<0.001$). **Conclusion** The synergistic effects of combined treatment reduced distal tumor growth. Whole-body ^{18}F -FDG PET/CT Patlak multi-parametric imaging can monitor the synergistic effects of PD-1 antibody and radiotherapy in B16F10 melanoma, providing reliable imaging parameters for optimizing combinatorial therapies.

Key words dynamic whole-body PET/CT; Patlak; $\text{SUV}_{\max}$; MR_{FDG} ; combination therapy; abscopal effect