

• 综述 •

基于碳酸酐酶 IX 的肿瘤成像和治疗研究进展

林佳, 王佃余, 刘鉴峰, 杨丽军*, 刘金剑*

中国医学科学院北京协和医学院 放射医学研究所, 天津 300192

林佳, 王佃余, 刘鉴峰, 杨丽军, 刘金剑. 基于碳酸酐酶 IX 的肿瘤成像和治疗研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(1): 116-131.

LIN Jia, WANG Dianyue, LIU Jianfeng, YANG Lijun, LIU Jinjian. Carbonic anhydrase IX-based tumor imaging and therapy: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(1): 116-131.

摘要: 碳酸酐酶 IX (carbonic anhydrase IX, CAIX) 是一种在乏氧肿瘤细胞表面特异性过表达的跨膜蛋白, 具有调节肿瘤细胞内外酸碱度的功能, 与肿瘤增殖、侵袭和转移息息相关。因此, CAIX 是一个很有潜力的肿瘤成像和治疗靶点。本文详细阐述了基于 CAIX 的肿瘤成像、治疗和诊疗一体化的研究进展, 并对 CAIX 作为抗肿瘤靶点的应用前景进行了展望。

关键词: 碳酸酐酶 IX; 肿瘤成像; 肿瘤治疗; 诊疗一体化

Carbonic anhydrase IX-based tumor imaging and therapy: a review

LIN Jia, WANG Dianyue, LIU Jianfeng, YANG Lijun*, LIU Jinjian*

Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Abstract: Carbonic anhydrase IX (CAIX) is a transmembrane protein that is specifically overexpressed on the surface of hypoxic tumor cells. With the function of regulating the acidity of tumor cells both inside and outside, CAIX is closely related to tumor proliferation, invasion and metastasis. Therefore, CAIX is a promising target for tumor imaging and therapy. Herein, we summarized recent advances in CAIX-based tumor imaging, therapy and theranostics, and prospected future applications of using CAIX as an anti-tumor target.

Keywords: carbonic anhydrase IX; tumor imaging; tumor therapy; theranostics

资助项目: 国家自然科学基金(82172082, 81971731); 天津市自然科学基金杰出青年科学基金(18JCJQJC47300)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82172082, 81971731) and the National Science Fund for Distinguished Young Scholars of Tianjin (18JCJQJC47300).

*Corresponding authors. E-mail: YANG Lijun, yanglijun@irm-cams.ac.cn; LIU Jinjian, liujinjian@irm-cams.ac.cn

Received: 2022-06-14; Accepted: 2022-08-31; Published online: 2022-09-01

碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)是一类含锌金属酶,参与机体内环境中 pH、二氧化碳调节和碳酸氢盐转运以及电解质平衡等多个生理过程^[1]。目前,从哺乳动物中已经分离出至少 16 种 CA 亚型,它们在催化活性、组织分布和亚细胞定位等方面均存在明显差异,其中碳酸酐酶 IX (carbonic anhydrase IX, CAIX)在癌症演变过程中发挥着重要的作用^[2]。CAIX 是一个由 459 个氨基酸组成的跨膜蛋白^[3],包括暴露于细胞外的信号肽、粘蛋白域、催化域、跨膜片段和胞质内短肽 5 个部分^[4]。近年来研究表明,CAIX 是乏氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)下游基因的转录蛋白,在许多乏氧恶性肿瘤,包括乳腺癌、肺癌、卵巢癌、头颈部癌、膀胱癌、结肠癌、宫颈癌和肾癌等细胞表面特异性过表达,而在正常组织中的表达量十分有限^[5]。因此,以 CAIX 作为靶点开发造影剂有望获得高灵敏度和高空间分辨率的肿瘤成像效果,为癌症早期诊断和药物疗效评价提供有力的工具。CAIX 在肿瘤细胞内外酸碱度调节方面发挥着至关重要的作用(图 1),其暴露于细胞外的部分能够有效催化 H_2O 和 CO_2 生成 HCO_3^- 和 H^+ ,并配合碳酸氢盐转运蛋白如 Na^+/HCO_3^- 协同转运蛋白(Na^+/HCO_3^- co-transporters, NBCs)将 HCO_3^- 输送到细胞内,以中和肿瘤细胞高速代谢所产生的 H^+ ,维持有利于肿瘤快速增殖的胞内弱碱性微环境^[6]。此外,CAIX 催化产生的 H^+ 可酸化细胞外基质,诱导免疫抑制肿瘤微环境的形成,从而促进肿瘤侵袭和转移,并抵抗外来干预和各种治疗^[7]。大量临床和临床前研究表明,CAIX 的过表达不仅大大提高了肿瘤转移的可能性^[8],而且与化疗耐药性和放疗耐受性成正相关,不利于癌症的治疗和预后^[9-10]。因此,以 CAIX 作为靶点开发抗肿瘤药物不仅能够提高药物分子的生物

利用度,降低因药物脱靶所导致的机体毒副作用,还可有效抑制 CAIX 的 pH 调节功能,形成不利于肿瘤细胞增殖、侵袭和转移的生存环境,对提高癌症治疗效果具有重要的意义。综上所述,CAIX 是一个有潜力的肿瘤成像和治疗靶点,本文对近年来基于 CAIX 的肿瘤成像、治疗及诊疗一体化研究进展进行综述(图 2),并对该领域未来的发展进行展望。

1 基于 CAIX 的肿瘤成像研究

CAIX 作为一种极为重要的乏氧细胞内源

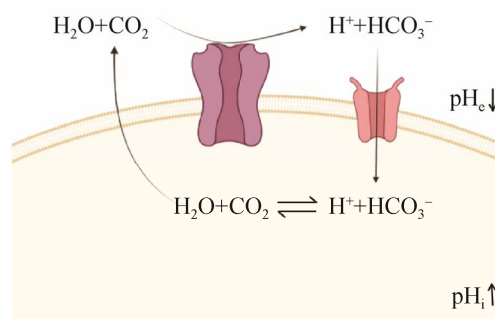


图 1 CAIX 的肿瘤细胞内外 pH 调节作用示意图

Figure 1 Schematic illustration of the internal and external pH-regulating effect of CAIX on tumor cells.

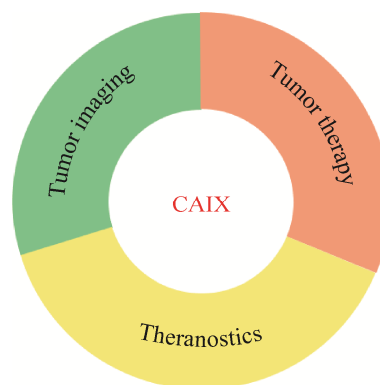


图 2 基于 CAIX 的抗肿瘤研究进展

Figure 2 Advances in CAIX-based antitumor research.

性标志物,在绝大多数缺氧实体肿瘤细胞表面特异性过表达,为肿瘤分子影像探针的开发提供了可靠的靶点^[11]。此外,随着肿瘤发展,其乏氧程度往往越来越严重,导致 CAIX 在肿瘤中的表达量不断增加^[12]。研究表明,CAIX 在患者血清和肿瘤组织中的表达量与肿瘤分期相关^[13]。因此,基于 CAIX 的肿瘤成像不仅有助于肿瘤诊断并通过影像学分析辅助肿瘤疗效评价,还有望在癌症分期的判定方面发挥重要作用,为临床医生制定合适的治疗和预后方案提供参考。本文将从基于 CAIX 的肿瘤放射性核素成像、超声成像、光学成像和多模态成像 4 个方面进行阐述。

由于放射性射线的组织穿透力强且几乎无背景信号干扰,因此放射性核素成像具有极高的灵敏度,代表性的正电子发射断层成像术(positron emission computed tomography, PET)和单光子发射计算机断层成像术(single-photon emission computed tomography, SPECT)目前已在临床肿瘤诊断领域得到了广泛应用^[14]。吉伦妥昔单抗(girentuximab, cG250)是一种可特异性结合 CAIX 的单克隆抗体,对其进行放射性核素标记可用于对 CAIX 阳性肿瘤的成像^[15]。早在 1993 年,¹³¹I 标记的抗 CAIX 单克隆抗体

G250 (¹³¹I]-mAb-G250)便被用于对肾细胞癌患者的成像,以评估 mAb-G250 在肾细胞癌治疗中的应用前景^[16]。紧接着,¹²⁴I 和 ⁸⁹Zr 标记的 G250 (¹²⁴I]-cG250 和 ⁸⁹Zr]-cG250)也相继问世,并在肾癌 PET 成像方面展现出不俗的应用潜力^[17]。此后,研究人员又开发了多种靶向 CAIX 的放射性示踪剂,并评价了它们对不同肿瘤的显像效果。2019 年, Tolmachev 等^[18-19]系统地考察并比较了目前有应用前景的几种 CAIX 靶向放射性核素探针,筛选出适用于肾细胞癌转移瘤成像的 [¹¹¹In]In-DOTA-HE₃-ZCAIX:2 (图 3)和适用于头颈部癌成像的 [¹¹¹In]In-DTPA-G250,为这 2 种探针的临床转化提供了有用的数据参考。最近, van Lith 等^[20]基于靶向 CAIX 的单域抗体(variable domains of heavy chain only antibodies, VHHs)开发了多种新型的放射性示踪剂,并比较了它们的细胞亲和力、生物分布、肿瘤蓄积等性质,发现 [¹¹¹In]In-DTPA-B9 对 CAIX 的靶向特异性最高,具有准确定量肿瘤乏氧程度的潜力,而白蛋白结合域(albumin-binding domain, ABD)修饰的 [¹¹¹In]In-DTPA-B9-ABD_{low} 和 [¹¹¹In]In-DTPA-B9-ABD_{high} 具有更长的血液循环半衰期和更多的肿瘤蓄积,有利于获得更好的头颈部肿瘤 SPECT 成像效果。

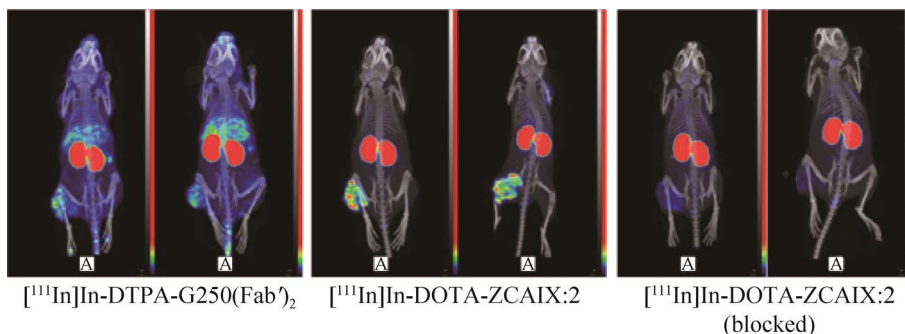


图 3 基于 [¹¹¹In]In-DOTA-ZCAIX:2 和 [¹¹¹In]In-DTPA-G250(Fab')₂ 的 SK-RC-52 小鼠移植瘤 SPECT/CT 成像^[18]

Figure 3 SPECT/CT imaging of SK-RC-52 transplanted mice based on [¹¹¹In]In-DOTA-ZCAIX:2 and [¹¹¹In]In-DTPA-G250(Fab')₂^[18].

超声成像(ultrasound imaging, USI)也是一种在临床上广泛应用的影像学手段,与放射性核素成像相比,具有操作方便、无辐射损伤、实时动态成像等优点。构建靶向 CAIX 的超声造影剂有望在肿瘤成像领域发挥重要作用^[21]。2017 年, Zhu 等^[22]在脂质纳米泡上负载了一种可靶向 CAIX 粘蛋白域的多肽 PGLR-P1 (NMPKDVTRMSS)。实验表明该纳米泡可选择性地聚集于 CAIX 阳性表达的细胞周围,并能特异性地增强多种高表达 CAIX 的移植肿瘤的 USI 效果。然而,在后期的研究中他们发现多肽的反复注射会引起自身免疫反应,从而限制了该探针的临床应用。随后,该课题组又构建了装载 CAIX 靶向性核酸适配体的纳米泡,解决了免疫排斥问题,并系统研究了其对多种肿瘤的特异性结合能力和 USI 效果,为开发适合对不同器官的恶性肿瘤进行早期诊断的 USI 探针提供了实验数据支撑^[23]。2020 年, Li 等^[24]研制了一种载有 CAIX 单抗的纳米泡 PLGA-PEG-mAbCAIX NBs,作为检测肿瘤缺氧环境的靶向性 USI 探针。由于雌激素受体阳性(estrogen receptor positive, ER⁺)肿瘤对他莫昔芬的耐药会伴随肿瘤缺氧程度的恶化而增加,因此该纳米泡可动态监测 ER⁺乳腺癌患者对他莫昔芬的耐药情况,从而对其耐药性进行早期

干预(图 4)。

基于荧光探针的光学成像既不需要昂贵的成像设备,又无需特殊防护,是一种非侵入性的影像学方法,近年来受到广泛关注和研究。Groves 等^[25]将 CAIX 抑制剂和多种荧光染料相结合,合成了一系列近红外荧光染料偶联的磺酰胺衍生物,作为 CAIX 靶向的荧光成像探针,并利用荧光分子断层扫描技术,无创地量化内源性缺氧标志物 CAIX 在肿瘤中的表达水平,为研究乏氧肿瘤的潜在生物学效应和开发新的抗癌疗法提供了简单可行的辅助工具。随后, van Brussel 等^[26]将荧光分子 IRDye800CW 和可与 CAIX 特异性结合的纳米抗体 B9 相偶联,赋予该纳米抗体荧光成像的功能,能通过对转移前的早期乳腺癌进行快速光学成像为乳腺癌手术治疗提供辅助(图 5)。

各种影像学手段优点各异,但同时也存在各自的缺陷,因此依赖单一成像往往很难获得满意的肿瘤显像效果。多模态成像能将多种成像方式融合为一体,发挥各自的优势,规避各种不足,使肿瘤显像效果达到最大化。目前,基于 CAIX 的多模态成像研究报道并不多见。2015 年, Muselaers 等^[27]开发了一种荧光染料和放射性核素双标记的抗 CAIX

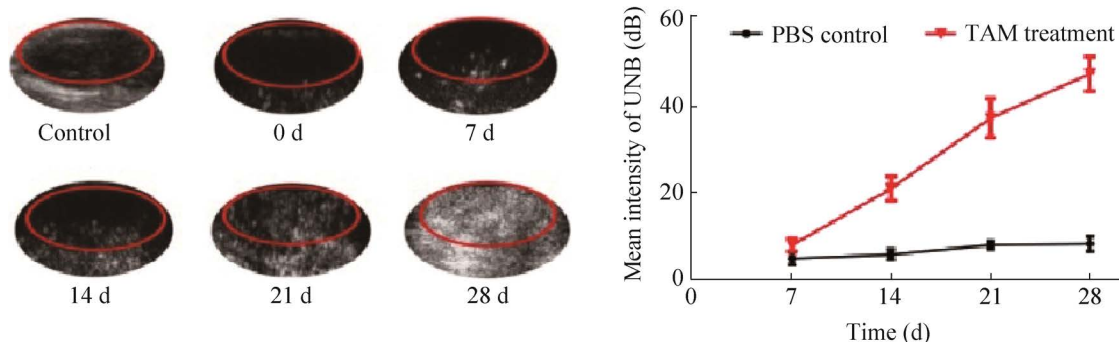


图 4 基于 PLGA-PEG-mAbCAIX NBs 的 ER⁺肿瘤超声成像^[24]

Figure 4 Ultrasound imaging of ER⁺ tumors based on PLGA-PEG-mAbCAIX NBs^[24].

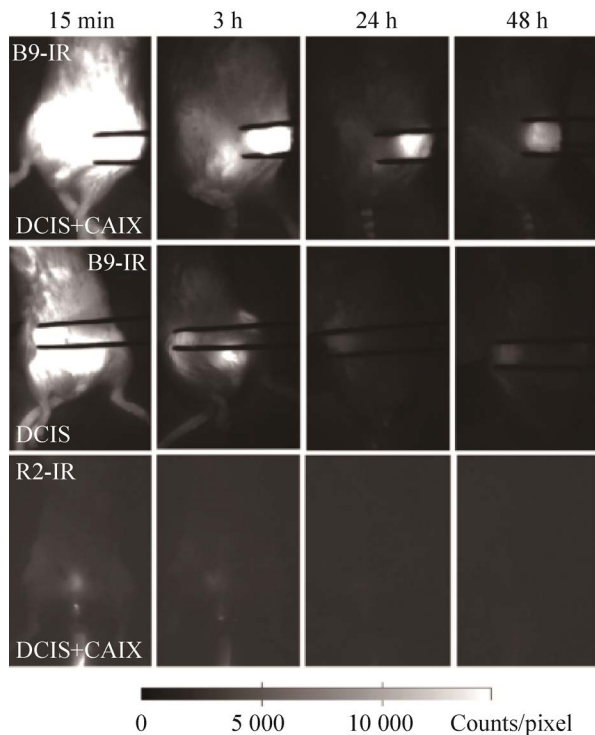


图 5 基于 B9-IR 纳米抗体的 DCIS+CAIX 移植小鼠荧光成像^[26] 肿瘤夹在镊子中间

Figure 5 Fluorescence imaging of DCIS+CAIX transplanted mice based on B9-IR nanobodies. Tumors were held between tweezers^[26].

抗体 ^{111}In -DTPA-G250-IRDye800CW, 通过光学/SPECT 双模态成像指导腹膜内透明细胞肾癌的手术治疗。结果显示, 通过该双模态成像探针获取的 SPECT 影像和荧光图像具有很好

的一致性, 无论是术前还是术中均能够高空间分辨率地准确定位高表达 CAIX 的肾癌病灶部位, 以确保在尽可能保留正常组织的前提下, 将恶性肿瘤组织完全切除。随后, Hekman 等^[28]又开发了 ^{111}In -DOTA-cG250-IRDye800CW 双模态成像探针, 并首次将其应用于临床上对透明细胞肾癌患者的手术治疗。该探针在术前可通过 ^{111}In 的 SPECT/CT 成像功能对肿瘤进行定位, 术中则能借助 IRDye800CW 的荧光成像功能对肿瘤轮廓进行勾画, 为肿瘤的精准切除提供导航, 术后亦可通过荧光成像评估肿瘤组织的切除效果, 以确保获得阴性的手术切缘(图 6)。

2 基于 CAIX 的肿瘤治疗研究

CAIX 不仅具有在正常组织中含量有限、但在肿瘤组织中普遍高表达的特点, 还具有调节肿瘤细胞内外 pH、调控肿瘤生存微环境及影响肿瘤细胞粘附、迁移和侵袭等重要功能, 再加上具有主要分布于细胞膜表面、利于抗体或抑制剂靶向的特点, 使其成为一个有吸引力的肿瘤治疗靶点^[29]。近年来, 科研人员基于 CAIX 开发了多种肿瘤治疗方法, 下面将分别从单一治疗和联合治疗 2 个方面进行具体阐述。

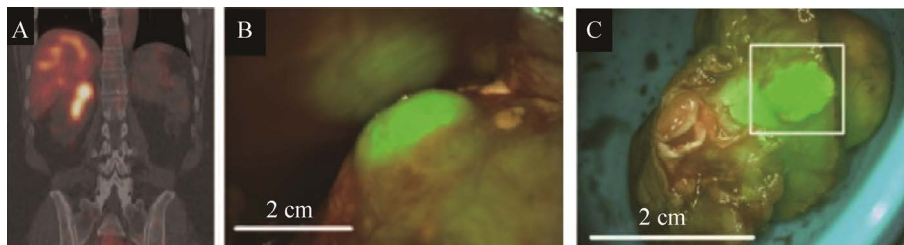


图 6 基于 ^{111}In -DOTA-cG250-IRDye800CW 的双模态成像 A: 术前 SPECT/CT 成像. B: 术中近红外荧光成像. C: 术后近红外荧光成像评估肿瘤切除效果^[28]

Figure 6 Dual-modality imaging based on ^{111}In -DOTA-cG250-IRDye800CW. A: Preoperative SPECT/CT imaging. B: Intraoperative near-infrared fluorescence imaging. C: Postoperative near-infrared fluorescence imaging to evaluate the resected tumor tissue^[28].

2.1 基于 CAIX 的肿瘤单一治疗

CAIX 抑制剂能通过抑制 CAIX 的活性和表达对肿瘤进行干预和治疗,其主体是无机阴离子、磺胺类、酚类和香豆素类小分子。无机阴离子和磺胺类抑制剂通过与 CAIX 活性位点内的锌离子配位来降低酶活性,分别具有 $\mu\text{mol/L}$ 和 nmol/L 级的 K_i 值。酚类抑制剂能与 CAIX 活性位点内的锌离子结合的水分子、氢氧根离子等形成氢键,生成稳定的酶活性抑制加合物。香豆素类化合物则可在 CAIX 催化下产生能锚定于 CAIX 活性位点空腔的 2-羟基肉桂酸,从而发挥酶抑制活性^[30]。由于化学小分子的合成相对简单,因此基于小分子 CAIX 抑制剂的肿瘤化学治疗研究较多。例如,苯酚、3,5-二氟苯酚、氯喹诺均可在体外有效抑制 CAIX 活性,有望在乏氧癌症治疗中发挥作用^[31]。2011 年, Touisni 等^[32]将单糖与香豆素偶联,合成了 7-糖基香豆素,其不仅在体外展现出良好的 CAIX 抑制作用,而且对 CAIX 高表达的小鼠 4T1 乳腺癌模型的抑瘤效果显著。Pacchiano 等^[33]发现,脲基取代的苯磺酰胺也可有效抑制 CAIX,并在乳腺癌转移瘤模型中展现出不俗的抗肿瘤增殖和转移活性(图 7)。除此之外,磺胺类药物 SLC-0111^[34]和 E7070^[35]也均可通过选择性抑制 CAIX 的活性来发挥抗肿瘤功效。除小分子 CAIX 抑制剂外,单克隆抗体由于具有较高的特异性,近年来被广泛用于靶向 CAIX 的抗肿瘤研究。目前临床研究最多的抗 CAIX 单抗是 cG250,其能特异性地与 CAIX 所独有的胞外粘蛋白域结合而导致酶失活^[5],¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y 及 ¹⁸⁶Re 标记的 cG250 放射性药物均被证明具有良好的抗肿瘤效果,并具备临床应用的潜力^[36]。2015 年,Chang 等^[37]通过噬菌体展示技术筛选出 13 个高特异性结合

CAIX 的单克隆抗体,并对其中 2 种单抗在诱发 CAIX 高表达的肿瘤细胞的免疫应答方面的性能进行了系统评价。体外实验表明,这 2 种单抗不仅能通过抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用、补体依赖的细胞毒性作用以及抗体依赖的细胞吞噬作用对肾细胞癌肿瘤细胞进行杀伤,还可有效抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭。体内实验结果显示,这类 CAIX 抑制剂能通过介导体内免疫反应,包括 NK 细胞浸润和 T 细胞激活,对小鼠肾细胞癌原位瘤进行有效抑制,为 CAIX 阳性肿瘤的治疗提供了新的备选药物。2021 年,Chafe 等^[38]发现 CAIX 与癌细胞的程序性铁死亡密切相关,并对相关分子机制进行了深入探究。该课题组采用全基因组合成致死筛选确定了编码 CAIX 的基因 *CA9* 和编码半胱氨酸脱硫酶(铁硫簇生物合成关键酶,参与铁死亡)的基因 *NFS1* 之间的一种新的合成致死相互作用。随后,他们通过抑制胱氨酸/谷氨酸逆向转运体 xCT 来消耗 NFS1 或阻断胱氨酸的供应,同时靶向抑制 CAIX,有效促进了癌细胞铁死亡(图 8),并显著抑制了肿瘤生长。该研究为开发能够克服乏氧和酸性微环境诱导的肿瘤无限增殖和治疗耐受的新疗法提供了重要的研究基础。除了通过使用抑制剂使 CAIX 失活而对肿瘤进行干预之外,Lou 等^[39]于 2011 年通过使用 shRNA 直接沉默 CAIX 的表达,显著降低了 4T1 细胞外酸性,有效抑制了细胞增殖,展现出优异的小鼠乳腺癌肿瘤抑制效果。综上所述,基于 CAIX 开发的各种小分子抑制剂、单克隆抗体等不仅在临床前研究中展现出良好的肿瘤抑制效果,部分抑制剂,如 SLC-0111、cG250 等因疗效显著,目前也正处于临床评价过程中,有望在临床肿瘤治疗方面发挥重要作用^[40-41]。

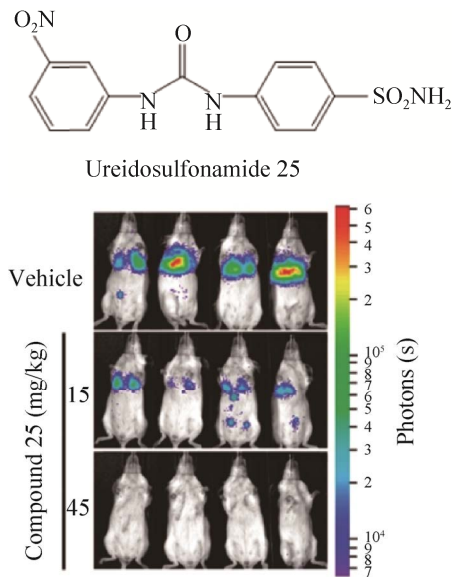


图7 脲基取代苯磺酰胺类化合物 25 抑制 4T1 乳腺癌的转移^[33]

Figure 7 Ureidosulfonamide 25 inhibits the formation of metastases by 4T1 mammary tumor cells^[33].

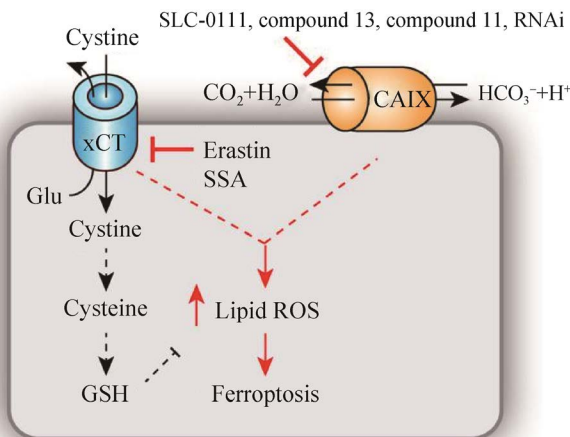


图8 抑制 CAIX 和 xCT 促进肿瘤细胞铁死亡的示意图^[38]

Figure 8 Schematic illustration of inhibition of CAIX and xCT to promote ferroptosis of tumor cells^[38].

2.2 基于 CAIX 的肿瘤联合治疗

小分子抑制剂具有结构简单、易合成和易代谢的优点，在治疗初期会一定程度地抑制肿

瘤的增殖和发展，但随着时间的推移，癌细胞会通过促进药物外排、抑制细胞凋亡、上皮间质转化等机制对其产生耐药性，继而导致肿瘤的复发和转移^[42]。相较于小分子抑制剂而言，单克隆抗体对 CAIX 具有更高的亲和力，一些特殊的抗 CAIX 单克隆抗体甚至还可以激活免疫系统来杀伤肿瘤。然而，肿瘤细胞也会逐渐对单克隆抗体产生耐药性，从而导致疗效降低^[43]。shRNA 介导的 CAIX 低表达虽然能从源头上抑制 CAIX 阳性肿瘤的发展，但 RNA 在运输到癌细胞内的过程中会面临核酸内切酶降解、网状内皮系统清除、细胞摄取率低等问题，导致基因沉默效率大大降低^[44]。联合治疗能将多种治疗的优势整合于一体，通过发挥协同治疗作用来增强对肿瘤细胞的杀伤作用，最大程度地减少癌症复发和转移，以达到根除肿瘤的目的。

免疫治疗近年来发展迅速，治疗性疫苗作为肿瘤免疫治疗的重要组成部分，引起了人们的广泛关注。Chai 等^[45]开发了一种含有纤维蛋白原样蛋白 1 (fibrinogen-like protein 1, FGL1) 和 CAIX 双抗原的新型 DNA 疫苗，并以 PLGA/PEI 纳米粒子作为载体将疫苗进行肌肉内递送，能够有效诱导体内 DC 细胞的成熟，进一步促进 CD8⁺ T 细胞介导的多重免疫应答，并最终有效抑制肾癌皮下瘤和肺转移瘤的发展(图 9)。嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)免疫治疗通过对人体 T 细胞进行工程化改造，使 T 细胞可以特异性靶向清除肿瘤细胞，在急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病等血液系统恶性肿瘤中得到广泛应用^[46-47]。由于 CAIX 在乏氧实体瘤中特异性过表达，近年来基于 CAIX 的 CAR-T 疗法在抗击实体肿瘤的研究也在不断涌现。2019 年，Cui 等^[48]在验证了脑胶质瘤细胞表面高表达

CAIX 的基础上,设计了一种细胞膜上含有 anti-CAIX scFv 的第三代 CAR-T 细胞,通过瘤内直接注射可特异性靶向恶性脑胶质瘤细胞,并展现出良好的抑瘤效果,同时最大程度地降低了脱靶对正常组织造成的副作用。随后, Zhang 等^[49]将一种携带蛋白聚糖的溶瘤腺病毒与靶向 CAIX 的 CAR-T 细胞相结合,用于对 CAIX 阳性表达的肾细胞癌的治疗研究。溶瘤病毒治疗减轻了肿瘤免疫微环境对 T 细胞的抑制,促进了 T 细胞在肿瘤中的浸润和侵袭,从而有效增强了 T 细胞的抗肿瘤作用。溶瘤病毒治疗与 CAR-T 治疗协同作用,逆转了肿瘤发展进程的同时提高了荷瘤小鼠的生存率。最近, Zheng 等^[50]制备了一种掺杂 Mn 的 CaCO_3 纳米粒子,并用脂质体对其包裹,同时负载 CAIX 抑制剂 SLC-0111。该纳米平台能够在肿瘤微酸性环境下分解,释放的 SLC-0111 能通过抑制 CAIX 活性来调节肿瘤细胞外的 pH 值,以增强效应 T 细胞活性。此外,释放的 Mn^{2+} 和 Ca^{2+} 也可分别通过分解过氧化氢和引起线粒体紊乱导致胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)升高,引起肿瘤细胞的免疫原性死亡。体外和体内实验均证实,这种全免疫阶段增强策略展现出显著的黑色素瘤协同免疫治疗效果,为抑制肿瘤增殖和转移提供了有希望的免疫新疗法。放射治疗虽然对大多癌症有效,但一些恶性程度高的乏氧肿瘤却表现出放疗耐受行为,而通过抑制 CAIX 的表达往往可以增强肿瘤细胞对放疗的敏感性。Jiang 等^[51]使用脂质体将具有 CAIX 沉默功能的 siRNA 递送至鼻咽癌 CNE-2 细胞,通过 siRNA 介导的基因敲除导致 CAIX 表达量下降,造成细胞活力降低,并通过结合电离辐射将肿瘤细胞的有丝分裂阻滞在 G2/M 期,从而增强了鼻咽癌细胞对放疗的敏感性。随后, Xu 等^[52]以小分子 CAIX

抑制剂 S4 作为放疗增敏剂,通过抑制 CAIX 活性来下调胞内 pH,引起细胞代谢受阻,降低氧气消耗,从而促进放疗敏感肿瘤微环境的形成。S4 给药与 X-射线辐照相结合能够明显加剧 DNA 损伤,促进肿瘤细胞凋亡,获得良好的食管鳞状细胞癌放疗效果。硼中子捕获疗法(boron neutron capture therapy, BNCT)是一种结合中子辐照和含硼药物的靶向放射治疗方式,能够选择性杀伤肿瘤细胞,对机体的毒副作用较小。Alberti 等^[53]通过将磺酰胺基团引入碳硼烷,制得的磺酰胺功能化碳硼烷(sulfonamido-functionalised-carborane, CA-SF)同时具备 CAIX 抑制和硼靶向递送的功能。体内外实验结果显示,CA-SF 结合中子辐照能有效抑制间皮瘤和乳腺癌细胞的增殖。然而相较于常规的放射治疗,BNCT 还处于起步阶段,仍面临着合适的中子源不易获得以及剂量难以精确测算等问题^[54]。化学治疗与 CAIX 抑制剂相结合也取得了不错的抗肿瘤进展。早在 2012 年,拜耳公司便将强效细胞毒性药物单甲基奥利司汀修饰于抗 CAIX 单克隆抗体表面,得到的抗体偶联药物 BAY79-4620 对 CAIX 阳性肿瘤显示出很强的抑制活性^[55]。随后, Andreucci 等^[56]在细胞水平系统地评价了 CAIX 抑制剂 SLC-0111 对多种常规化疗药的增敏性能,发现其与氮烯唑胺或替莫唑胺联用能显著增强这 2 种药物对黑色素瘤 A375-M6 细胞的杀伤效果,还能有效提高阿霉素(doxorubicin, DOX)对乳腺癌 MCF-7 细胞以及 5-氟尿嘧啶对结肠癌 HCT116 细胞的抑制效果,证明 CAIX 抑制剂对肿瘤化疗具有明显的辅助作用。2019 年, Li 等^[57]将磺酰胺类 CAIX 抑制剂 ABS 修饰于自组装短肽上,开发了一种可靶向乏氧肿瘤并在癌细胞表面自组装形成纳米纤维的肽衍生物 N-pepABS。形成的纳米纤维由于

具有更长的膜表面滞留时间和更集中的配体-受体结合作用,表现出比单纯抑制剂更强的 CAIX 抑制作用。此外,CAIX 介导的内吞作用也促使纳米纤维被肿瘤细胞选择性摄取。进入细胞后,该纳米纤维可在溶酶体酸性 pH 刺激下发生进一步组装,纳米尺度不断增大,最终破坏溶酶体,阻断了细胞的保护性自噬功能(图 10)。体内实验表明,该多肽衍生物与 DOX 联用能够明显提升化疗药本身的抗肿瘤效果,为缺氧癌症治疗提供了新方向。随后,Chen 等^[58]通过二硫键将抗 CAIX 单克隆抗体修饰于介孔二氧化硅纳米颗粒(mesoporous silica nanoparticles, MSNs)表面,开发了一种新型的抗体靶向和谷胱甘肽(glutathione, GSH)响应的药物递送系统 MSNs-CAIX,用于对化疗药 DOX 的可控性递送。该载药纳米体系 DOX@MSNs-CAIX 可高效靶向富集于 CAIX 阳性的乳腺癌 4T1 细胞,并在胞内高表达的 GSH

触发下断裂二硫键,释放 DOX,对肿瘤进行有效杀伤。虽然 CAIX 抑制剂对化疗的增敏作用已被广泛验证,但其并非对所有肿瘤类型有效。van Kuijk 等^[59]发现,磺酰胺类 CAIX 抑制剂 S4 虽然能在细胞层面提高 DOX 对多种肿瘤细胞的抑制活性,却难以增强该化疗药对相应实体瘤的治疗效果,甚至降低了其对 MDA-MB-231 乳腺癌的疗效。上述结果表明,在将 CAIX 抑制剂与化疗药联用之前,需系统地研究二者的联合作用机制并对抗癌有效性进行充分验证。CAIX 抑制剂与光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)及光热疗法(photothermal therapy, PTT)相结合也被证明能有效促进这 2 种光学疗法的抗肿瘤效果。2017 年, Jung 等^[60]合成了一种乙酰唑胺(acetazolamide, AZ)衍生物偶联的 BODIPY 光敏剂 AZ-BPS,其不仅能在 660 nm 激光照射下通过产生 ROS 对肿瘤进行 PDT,还能借助 AZ 基团靶向并降低 CAIX 的活性从而

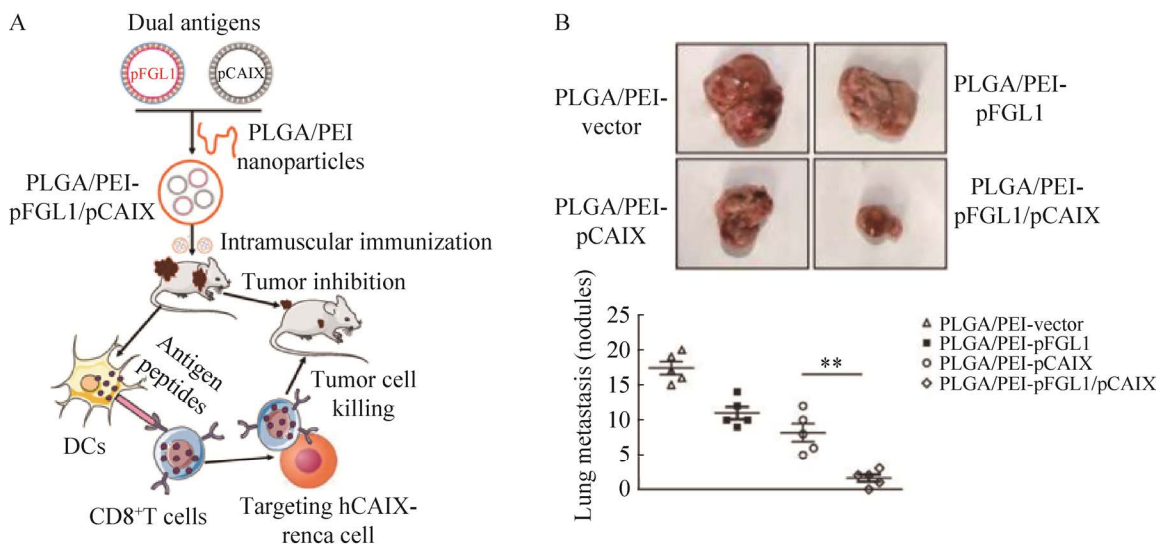


图 9 FGL1/CAIX 双靶向疫苗强大的抗肿瘤作用 A: 基于 PLGA/PEI-pFGL1/pCAIX 疫苗的抗肿瘤作用示意图。B: PLGA/PEI-pFGL1/pCAIX 疫苗抑制小鼠肾癌的发展和肺转移^[45]

Figure 9 Dual-targeting vaccine of FGL1/CAIX exhibits potent anti-tumor activity. A: Schematic illustration of the antitumor effect based on PLGA/PEI-pFGL1/pCAIX vaccine. B: PLGA/PEI-pFGL1/pCAIX vaccine inhibits the development and lung metastasis in mice with kidney cancer^[45].

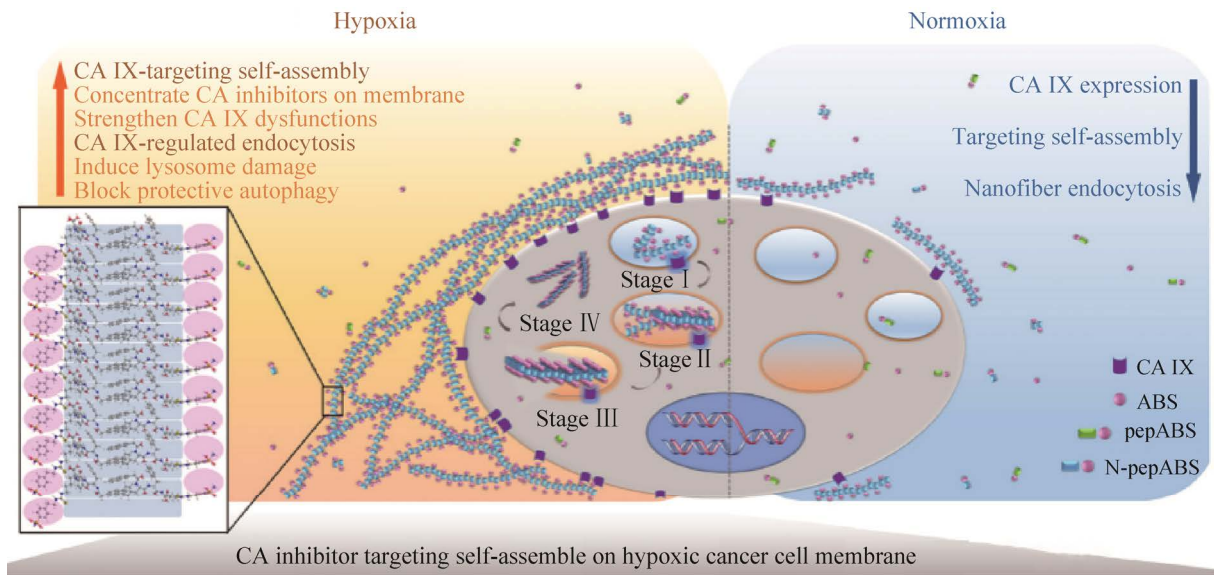


图 10 N-pepABS 靶向缺氧肿瘤细胞表面 CAIX 并自组装的示意图^[57]

Figure 10 Schematic illustration of N-pepABS targeting CAIX on the surface of hypoxic tumor cells and self-assembling^[57].

抑制肿瘤血管新生,有效解决了 PDT 中因氧气过度消耗和肿瘤乏氧加剧所引起的癌症复发和报复性增殖等问题,为临床 PDT 的应用推广提供了新的联合治疗策略。最近, Su 等^[61]开发的含磺酰胺基团的铽光敏剂 CA-Re 能牢固地锚定于缺氧肿瘤细胞膜上,并通过 I 型和 II 型 PDT 在原位产生大量 ROS,破坏膜完整性以激发 GSDMD 介导的细胞焦亡,增强肿瘤免疫原性,最终促进 DC 细胞成熟,激活 T 细胞依赖的适应性免疫反应,在摧毁原发肿瘤的同时可消除远端肿瘤。基于 CAIX 的肿瘤 PTT 研究相对较少, Chen 等^[62]开发了一种 CAIX 抗体修饰的金纳米棒作为光热转化剂,其可高效靶向于 CAIX 阳性肿瘤并向深层缺氧区域渗透,对乏氧肿瘤进行光热消融。总之, CAIX 靶向抑制剂和抗肿瘤疫苗、CAR-T 细胞、放射治疗、BNCT、化学治疗、PDT 及 PTT 等的联合均能明显提升各种药物和疗法的抗肿瘤功效,展现出广阔的临床应用前景。

3 基于 CAIX 的肿瘤诊疗一体化研究

融合了诊断和治疗功能的诊疗一体化策略近年来成为备受推崇的癌症干预方法,能尽可能地减少用药次数,降低对机体的毒副作用,同时还可通过肿瘤显像对治疗效果进行实时评价。基于此, Iikuni 等^[63]合成了一种双脲基磺酰胺修饰的轮环藤宁四乙酸衍生物 US2,并对其分别进行放射性核素 ¹¹¹In 和 ⁹⁰Y 标记。¹¹¹In 标记的 [¹¹¹In]US2 能与 CAIX 高表达的 HT-29 肿瘤细胞特异性结合,并展现出优异的肿瘤 SPECT 显像效果。此外, ⁹⁰Y 标记的 [⁹⁰Y]US2 也可高效靶向并富集于 HT-29 肿瘤部位,进行放射性核素治疗,明显延缓了肿瘤的生长,同时未引起明显的血液毒性。该放射性诊疗一体化药物为乏氧肿瘤的诊断和治疗提供了安全有效的新策略。随后, Jiang 等^[64]通过 AZ 封端的两亲性聚合物 CAi-PEG-b-PPG-b-PEG-CAi 和有

机半导体聚合物 PCVB 的共组装制备了一种可抑制 CAIX 活性的纳米光敏剂 OPNi, 以克服传统 PDT 过程中因乏氧加剧所引起的抗癌疗效不佳及肿瘤转移的问题。借助于 AZ 的 CAIX 靶向功能和 PCVB 的荧光成像功能, OPNi 可高效地实现对乏氧性 MDA-MB-231 移植瘤的荧光成像。在荧光成像的指导下, 采用近红外激光照射肿瘤部位, OPNi 能通过 PCVB 产生 ROS 对肿瘤细胞进行杀伤, 同时 AZ 可通过抑制 CAIX 的活性降低缺氧肿瘤转移的概率, 展现出优于单独 PDT 的抗癌疗效(图 11)。最近, Zuo 等^[65]构建了一种 CAIX 抑制剂 BS 功能化的铜配位 MOF 基纳米材料 Cu-SSC@BS, 兼具磁共振/光声成像(magnetic resonance/photoacoustic imaging, MRI/PA)和光热/化学动力治疗(PTT/CDT)的功能。该多功能纳米材料一旦到达肿瘤部位, 负载的 Cu^{II} 能被肿瘤过表达的 GSH 还原为 Cu^{I} , 打破氧化还原平衡的同时可触发 BS 释放以抑制 CAIX 活性, 从而诱导细胞内 H^+ 积累。降低的细胞内 pH 进一步加快纳米材料的降解, 释放更多的 Cu^{II} 和 BS, 分别参与下一个循环的 GSH 消耗和细胞内酸化, 为 CDT 提供持续的

Cu^{I} 催化剂和有利的酸性微环境。在激光照射下, Cu-SSC@BS 不仅可以借助其良好的光热转化性能实现 PTT, 还能有效提高 CDT 效率, 发挥协同抗肿瘤疗效。此外, 良好的 MRI/PA 效果不仅能实现对肿瘤的高空间分辨率成像诊断, 还可对治疗效果进行实时监测和有效评价, 从而达到诊疗一体化的目的。总体来讲, 基于 CAIX 的诊疗一体化技术的研究较少, 目前尚未发现有明显适合临床转化的诊疗一体化制剂的报道, 未来基于 CAIX 的肿瘤诊疗一体化研究发展空间巨大。

4 总结与展望

综上所述, CAIX 在多种乏氧肿瘤细胞膜表面特异性过表达, 并具有调节细胞内外 pH 的功能, 可促进肿瘤的生长、迁移和侵袭以及对放化疗等多种干预疗法的耐受性。因此, 将 CAIX 作为药物靶点应用于肿瘤诊断和治疗具有极大的发展前景。本文从 CAIX 的结构和功能切入, 综述了基于其肿瘤成像、治疗以及诊疗一体化的研究进展。在基于 CAIX 的肿瘤成像方面, 放射性核素成像、超声成像、光学成像

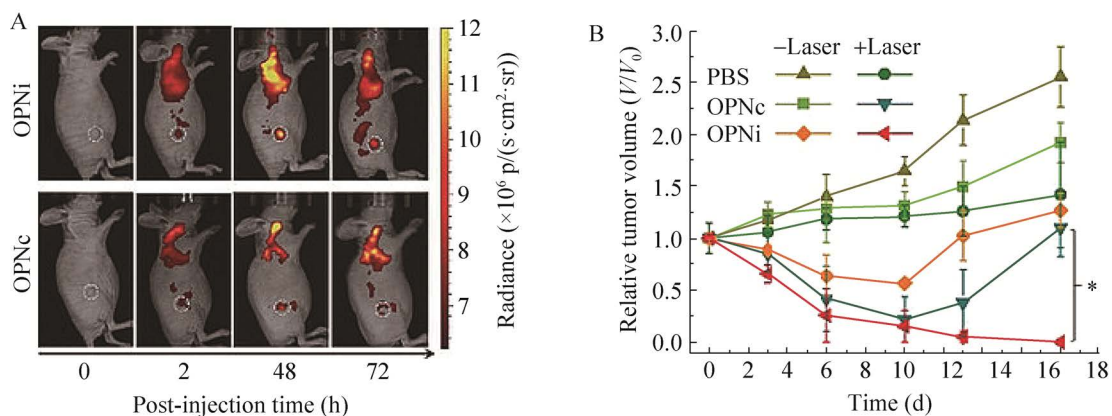


图 11 基于 OPNi 的 MDA-MB-231 小鼠移植瘤荧光成像(A)和 PDT 抑瘤曲线(B)^[64]

Figure 11 Fluorescence imaging (A) and tumor inhibition curves after PDT (B) of MDA-MB-231 transplanted mice based on OPNi^[64].

等在对乏氧肿瘤的诊断以及疗效评价方面发挥了重要的辅助作用。然而, 依赖单一成像往往很难获得精确的肿瘤显像效果, 而基于 CAIX 的多模态成像能融合多种成像方式的优点, 获得综合互补的影像学信息, 有望大大提高对肿瘤诊断的准确性。目前基于 CAIX 的多模态成像研究仍然较少, 预计是分子影像学未来的重要发展领域之一, 为肿瘤的早期诊断和精确定位提供支撑。在基于 CAIX 的肿瘤治疗方面, 采用小分子药物、单克隆抗体、shRNA 等抑制剂来降低 CAIX 的表达和活性的多种疗法均可获得良好的抗肿瘤效果。然而, 由于肿瘤具有异质性和耐药性等特征, 仅通过抑制 CAIX 通常难以彻底根治。因此, 将靶向抑制 CAIX 与免疫疗法、放射疗法、化学疗法、PTT 以及 PDT 等相结合往往可显著提升肿瘤治疗效果, 我们认为该领域在今后依然是基于 CAIX 的抗肿瘤研究的主要方向之一。在基于 CAIX 的诊疗一体化方面, 通过开发靶向 CAIX 的诊疗一体化制剂可同时实现对乏氧肿瘤的诊断和治疗, 显著提高抗肿瘤效率的同时减少了副作用, 因此与单纯的诊断或治疗相比具有明显的优势, 符合癌症个性化治疗的发展趋势。然而, 基于 CAIX 的肿瘤诊疗一体化研究目前仍比较罕见, 未来仍有很大的发展空间。此外, 近年来纳米科学和技术的快速发展为癌症治疗带来了重大变革, 纳米药物可借助其体内长循环能力、高渗透长滞留效应、组分和功能的可调节性等特点在肿瘤诊断和治疗中呈现出良好的作用效果和巨大的应用潜力。尤其是纳米材料可借助其优异的整合性将各种靶向基团、造影剂和药物融合于一体, 为多模态纳米探针、多药纳米体系以及诊疗一体化纳米制剂的开发提供了极大的便利。然而, 目前在基于 CAIX 的肿瘤成像和治疗纳米材料的开发仍处于初级阶段, 有待

进一步深入研究。综上所述, CAIX 是一个可靠的肿瘤成像和治疗靶点, 有望在未来的抗癌征程中发挥重要作用。

REFERENCES

- [1] HONARVAR H, GAROUSI J, GUNNERIUSSON E, HÖIDÉN-GUTHENBERG I, ALTAI M, WIDSTRÖM C, TOLMACHEV V, FREJD FY. Imaging of CAIX-expressing xenografts *in vivo* using ^{99m}Tc-HEHEHE-ZCAIX: 1 affibody molecule[J]. *International Journal of Oncology*, 2015, 46(2): 513-520.
- [2] WARD C, MEEHAN J, GRAY M, KUNKLER I, LANGDON S, ARGYLE D. Carbonic anhydrase IX (CAIX), cancer, and radiation responsiveness[J]. *Metabolites*, 2018, 8(1): 13.
- [3] QUEEN A, BHUTTO HN, YOUSUF M, SYED MA, HASSAN MI. Carbonic anhydrase IX: a tumor acidification switch in heterogeneity and chemokine regulation[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 86: 899-913.
- [4] 郭佳, 李凤然, 刘洋, 程卯生. 碳酸酐酶 IX 小分子抑制剂的研究进展[J]. *药学报*, 2013, 48(11): 1637-1643.
GUO J, LI FR, LIU Y, CHENG MS. Progress in the study of carbonic anhydrase inhibitors as potential anticancer drugs[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2013, 48(11): 1637-1643 (in Chinese).
- [5] LAU J, LIN KS, BÉNARD F. Past, present, and future: development of theranostic agents targeting carbonic anhydrase IX[J]. *Theranostics*, 2017, 7(17): 4322-4339.
- [6] PASTOREKOVA S, GILLIES RJ. The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: links to hypoxia, acidosis, and beyond[J]. *Cancer and Metastasis Reviews*, 2019, 38(1): 65-77.
- [7] DEBREGOVA M, CSADEROVA L, BURIKOVA M, LUKACIKOVA L, KAJANOVA I, SEDLAKOVA O, KERY M, KOPACEK J, ZATOVICOVA M, BIZIK J, PASTOREKOVA S, SVASTOVA E. CAIX regulates invadopodia formation through both a pH-dependent mechanism and interplay with actin regulatory proteins[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(11): 2745.
- [8] LI YJ, DONG M, SHENG WW, HUANG LP. Roles of carbonic anhydrase IX in development of pancreatic

- cancer[J]. *Pathology & Oncology Research*, 2016, 22(2): 277-286.
- [9] OZENSOY GO, SUPURAN CT, CAPASSO C. Carbonic anhydrase IX as a novel candidate in liquid biopsy[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2020, 35(1): 255-260.
- [10] DUIVENVOORDEN WCM, HOPMANS SN, GALLINO D, FARRELL T, GERDES C, GLENNIE D, LUKKA H, PINTHUS JH. Inhibition of carbonic anhydrase IX (CA9) sensitizes renal cell carcinoma to ionizing radiation[J]. *Oncology Reports*, 2015, 34(4): 1968-1976.
- [11] HUIZING FJ, HOEBEN BAW, FRANSSEN GM, BOERMAN OC, HESKAMP S, BUSSINK J. Quantitative imaging of the hypoxia-related marker CAIX in head and neck squamous cell carcinoma xenograft models[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2019, 16(2): 701-708.
- [12] van KUIJK SJA, YAROMINA A, HOUBEN R, NIEMANS R, LAMBIN P, DUBOIS LJ. Prognostic significance of carbonic anhydrase IX expression in cancer patients: a meta-analysis[J]. *Frontiers in Oncology*, 2016, 6: 69.
- [13] TAKACOVA M, BARTOSOVA M, SKVARKOVA L, ZATOVICOVA M, VIDLICKOVA I, CSADEROVA L, BARATHOVA M, BREZA J JR, BUJDAK P, PASTOREK J, SR JB, PASTOREKOVA S. Carbonic anhydrase IX is a clinically significant tissue and serum biomarker associated with renal cell carcinoma[J]. *Oncology Letters*, 2013, 5(1): 191-197.
- [14] KHAN AA, de ROSALES RTM. Radiolabelling of extracellular vesicles for PET and SPECT imaging[J]. *Nanotheranostics*, 2021, 5(3): 256-274.
- [15] HOEBEN BAW, KAANDERS JHAM, FRANSSEN GM, TROOST EGC, RIJKEN PFJW, OOSTERWIJK E, van DONGEN GAMS, OYEN WJG, BOERMAN OC, BUSSINK J. PET of hypoxia with ^{89}Zr -labeled cG250-F(ab')₂ in head and neck tumors[J]. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 2010, 51(7): 1076-1083.
- [16] OOSTERWIJK E, BANDER NH, DIVGI CR, WELT S, WAKKA JC, FINN RD, CARSWELL EA, LARSON SM, WARNAAR SO, FLEUREN GJ. Antibody localization in human renal cell carcinoma: a phase I study of monoclonal antibody G250[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 1993, 11(4): 738-750.
- [17] CHEAL SM, PUNZALAN B, DORAN MG, EVANS MJ, OSBORNE JR, LEWIS JS, ZANZONICO P, LARSON SM. Pairwise comparison of ^{89}Zr - and ^{124}I -labeled cG250 based on positron emission tomography imaging and nonlinear immunokinetic modeling: *in vivo* carbonic anhydrase IX receptor binding and internalization in mouse xenografts of clear-cell renal cell carcinoma[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2014, 41(5): 985-994.
- [18] GAROUSI J, HUIZING FJ, VOROBYEVA A, MITRAN B, ANDERSSON KG, LEITAO CD, FREJD FY, LÖFBLUM J, BUSSINK J, ORLOVA A, HESKAMP S, TOLMACHEV V. Comparative evaluation of affibody- and antibody fragments-based CAIX imaging probes in mice bearing renal cell carcinoma xenografts[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 14907.
- [19] HUIZING FJ, GAROUSI J, LOK J, FRANSSEN G, HOEBEN BAW, FREJD FY, BOERMAN OC, BUSSINK J, TOLMACHEV V, HESKAMP S. CAIX-targeting radiotracers for hypoxia imaging in head and neck cancer models[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 18898.
- [20] van LITH SAM, HUIZING FJ, FRANSSEN GM, HOEBEN BAW, LOK J, DOULKERIDOU S, BOERMAN OC, GOTTHARDT M, van BERGEN EN HENEGOUWEN PMP, BUSSINK J, HESKAMP S. Novel VHH-based tracers with variable plasma half-lives for imaging of CAIX-expressing hypoxic tumor cells[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2022, 19(10): 3511-3520.
- [21] PITRE-CHAMPAGNAT S, LEGUERNEY I, BOSQ J, PERONNEAU P, KIESSLING F, CALMELS L, COULOT J, LASSAU N. Dynamic contrast-enhanced ultrasound parametric maps to evaluate intratumoral vascularization[J]. *Investigative Radiology*, 2015, 50(4): 212-217.
- [22] ZHU LH, GUO YL, WANG LF, FAN XZ, XIONG XY, FANG KJ, XU D. Construction of ultrasonic nanobubbles carrying CAIX polypeptides to target carcinoma cells derived from various organs[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2017, 15(1): 63.
- [23] ZHU LH, WANG LF, LIU Y, XU D, FANG KJ, GUO YL. CAIX aptamer-functionalized targeted nanobubbles for ultrasound molecular imaging of various tumors[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, 13: 6481-6495.
- [24] LI Y, CHEN XY, ZHOU ZW, LI Q, WESTOVER KD,

- WANG M, LIU JJ, ZHANG S, ZHANG J, XU B, WEI X. Dynamic surveillance of tamoxifen-resistance in ER-positive breast cancer by CAIX-targeted ultrasound imaging[J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9(7): 2414-2426.
- [25] GROVES K, BAO B, ZHANG J, HANDY E, KENNEDY P, CUNEO G, SUPURAN CT, YARED W, PETERSON JD, RAJOPADHYE M. Synthesis and evaluation of near-infrared fluorescent sulfonamide derivatives for imaging of hypoxia-induced carbonic anhydrase IX expression in tumors[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(1): 653-657.
- [26] van BRUSSEL ASA, ADAMS A, OLIVEIRA S, DORRESTEIJN B, EL KHATTABI M, VERMEULEN JF, van der WALL E, MALI WP, DERKSEN PWB, van DIEST PJ, van BERGEN EN HENEGOUWEN PMP. Hypoxia-targeting fluorescent nanobodies for optical molecular imaging of pre-invasive breast cancer[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2016, 18(4): 535-544.
- [27] MUSELAERS CHJ, RIJKEMA M, BOS DL, LANGENHUIJSEN JF, OYEN WJG, MULDER PFA, OOSTERWIJK E, BOERMAN OC. Radionuclide and fluorescence imaging of clear cell renal cell carcinoma using dual labeled anti-carbonic anhydrase IX antibody G250[J]. *The Journal of Urology*, 2015, 194(2): 532-538.
- [28] HEKMAN MC, RIJKEMA M, MUSELAERS CH, OOSTERWIJK E, HULSBERGEN-Van de KAA CA, BOERMAN OC, OYEN WJ, LANGENHUIJSEN JF, MULDER PF. Tumor-targeted dual-modality imaging to improve intraoperative visualization of clear cell renal cell carcinoma: a first in man study[J]. *Theranostics*, 2018, 8(8): 2161-2170.
- [29] MCDONALD PC, WINUM JY, SUPURAN CT, DEDHAR S. Recent developments in targeting carbonic anhydrase IX for cancer therapeutics[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(1): 84-97.
- [30] TAFRESHI NK, LLOYD MC, BUI MM, GILLIES RJ, MORSE DL. Carbonic anhydrase IX as an imaging and therapeutic target for tumors and metastases[J]. *Sub-Cellular Biochemistry*, 2014, 75: 221-254.
- [31] INNOCENTI A, VULLO D, SCOZZAFAVA A, SUPURAN CT. Carbonic anhydrase inhibitors: interactions of phenols with the 12 catalytically active mammalian isoforms (CA I-XIV)[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, 18(5): 1583-1587.
- [32] TOUISNI N, MARESCA A, MCDONALD PC, LOU YM, SCOZZAFAVA A, DEDHAR S, WINUM JY, SUPURAN CT. Glycosyl coumarin carbonic anhydrase IX and XII inhibitors strongly attenuate the growth of primary breast tumors[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54(24): 8271-8277.
- [33] PACCHIANO F, CARTA F, MCDONALD PC, LOU YM, VULLO D, SCOZZAFAVA A, DEDHAR S, SUPURAN CT. Ureido-substituted benzenesulfonamides potently inhibit carbonic anhydrase IX and show antimetastatic activity in a model of breast cancer metastasis[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54(6): 1896-1902.
- [34] SARNELLA A, FERRARA Y, AULETTA L, ALBANESE S, CERCHIA L, ALTERIO V, de SIMONE G, SUPURAN CT, ZANNETTI A. Inhibition of carbonic anhydrases IX/XII by SLC-0111 boosts cisplatin effects in hampering head and neck squamous carcinoma cell growth and invasion[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2022, 41(1): 122.
- [35] FUKUOKA K, USUDA J, IWAMOTO Y, FUKUMOTO H, NAKAMURA T, YONEDA T, NARITA N, SAIJO N, NISHIO K. Mechanisms of action of the novel sulfonamide anticancer agent E7070 on cell cycle progression in human non-small cell lung cancer cells[J]. *Investigational New Drugs*, 2001, 19(3): 219-227.
- [36] BROUWERS AH, van EERD JEM, FRIELINK C, OOSTERWIJK E, OYEN WJG, CORSTENS FHM, BOERMAN OC. Optimization of radioimmunotherapy of renal cell carcinoma: labeling of monoclonal antibody cG250 with ¹³¹I, ⁹⁰Y, ¹⁷⁷Lu, or ¹⁸⁶Re[J]. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 2004, 45(2): 327-337.
- [37] CHANG DK, MONIZ RJ, XU ZY, SUN JS, SIGNORETTI S, ZHU Q, MARASCO WA. Human anti-CAIX antibodies mediate immune cell inhibition of renal cell carcinoma *in vitro* and in a humanized mouse model *in vivo*[J]. *Molecular Cancer*, 2015, 14: 119.
- [38] CHAFE SC, VIZEACOUAR FS, VENKATESWARAN G, NEMIROVSKY O, AWREY S, BROWN WS, MCDONALD PC, CARTA F, METCALFE A, KARASINSKA JM, HUANG L, MUTHUSWAMY SK, SCHAEFFER DF, RENOUF DJ, SUPURAN CT, VIZEACOUAR FJ, DEDHAR S. Genome-wide synthetic lethal screen unveils novel CAIX-NFS₁/xCT axis as a targetable vulnerability in hypoxic solid tumors[J]. *Science Advances*, 2021, 7(35): eabj0364.

- [39] LOU YM, MCDONALD PC, OLOUMI A, CHIA S, OSTLUND C, AHMADI A, KYLE A, KELLER UAD, LEUNG S, HUNTSMAN D, CLARKE B, SUTHERLAND BW, WATERHOUSE D, BALLY M, ROSKELLEY C, OVERALL CM, MINCHINTON A, PACCHIANO F, CARTA F, SCOZZAFAVA A, et al. Targeting tumor hypoxia: suppression of breast tumor growth and metastasis by novel carbonic anhydrase IX inhibitors[J]. *Cancer Research*, 2011, 71(9): 3364-3376.
- [40] MCDONALD PC, CHIA S, BEDARD PL, CHU Q, LYLE M, TANG LR, SINGH M, ZHANG ZH, SUPURAN CT, RENOUF DJ, DEDHAR S. A phase 1 study of SLC-0111, a novel inhibitor of carbonic anhydrase IX, in patients with advanced solid tumors[J]. *American Journal of Clinical Oncology*, 2020, 43(7): 484-490.
- [41] STILLEBROER AB, BOERMAN OC, DESAR IME, BOERS-SONDEREN MJ, van HERPEN CML, LANGENHUIJSEN JF, SMITH-JONES PM, OOSTERWIJK E, OYEN WJG, MULDER PFA. Phase 1 radioimmunotherapy study with lutetium 177-labeled anti-carbonic anhydrase IX monoclonal antibody girentuximab in patients with advanced renal cell carcinoma[J]. *European Urology*, 2013, 64(3): 478-485.
- [42] HOUSMAN G, BYLER S, HEERBOTH S, LAPINSKA K, LONGACRE M, SNYDER N, SARKAR S. Drug resistance in cancer: an overview[J]. *Cancers*, 2014, 6(3): 1769-1792.
- [43] IMAI K, TAKAOKA A. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6(9): 714-727.
- [44] KIM B, PARK JH, SAILOR MJ. Rekindling RNAi therapy: materials design requirements for *in vivo* siRNA delivery[J]. *Advanced Materials: Deerfield Beach, Fla*, 2019, 31(49): e1903637.
- [45] CHAI DF, QIU D, SHI XQ, DING JG, JIANG N, ZHANG ZC, WANG JW, YANG J, XIAO PL, WANG G, ZHENG JN. Dual-targeting vaccine of FGL1/CAIX exhibits potent anti-tumor activity by activating DC-mediated multi-functional CD8 T cell immunity[J]. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 2022, 24: 1-13.
- [46] 郑乃溶, 徐建青. CAR-T 细胞免疫疗法的研究进展[J]. *复旦学报: 医学版*, 2022, 49(2): 295-299.
- ZHENG NR, XU JQ. Research progress of CAR-T cell immunotherapy[J]. *Fudan University Journal of Medical Sciences*, 2022, 49(2): 295-299 (in Chinese).
- [47] ZHAO ZJ, CHEN Y, FRANCISCO NM, ZHANG YQ, WU MH. The application of CAR-T cell therapy in hematological malignancies: advantages and challenges[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2018, 8(4): 539-551.
- [48] CUI J, ZHANG Q, SONG Q, WANG HR, DMITRIEV P, SUN MY, CAO XY, WANG Y, GUO LM, INDIG IH, ROSENBLUM JS, JI CX, CAO DQ, YANG KY, GILBERT MR, YAO Y, ZHUANG ZP. Targeting hypoxia downstream signaling protein, CAIX, for CAR T-cell therapy against glioblastoma[J]. *Neuro-oncology*, 2019, 21(11): 1436-1446.
- [49] ZHANG C, FANG L, WANG XY, YUAN S, LI WJ, TIAN WP, CHEN J, ZHANG Q, ZHANG YX, ZHANG Q, ZHENG JN. Oncolytic adenovirus-mediated expression of decorin facilitates CAIX-targeting CAR-T therapy against renal cell carcinoma[J]. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 2022, 24: 14-25.
- [50] ZHENG CX, SONG QL, ZHAO HJ, KONG YY, SUN LL, LIU XX, FENG QH, WANG L. A nanoplatform to boost multi-phases of cancer-immunity-cycle for enhancing immunotherapy[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 339: 403-415.
- [51] JIANG LJ, XU G, LI ZH, ZENG XW, LI ZL, LIU JW, MEI L, LI XM. RNAi-mediated knockdown of CAIX enhances the radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line, CNE-2[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2017, 10: 4701-4709.
- [52] XU PQ, ZHANG Y, GE FH, ZHANG FM, HE X, GAO XY. Modulation of tumor microenvironment to enhance radiotherapy efficacy in esophageal squamous cell carcinoma by inhibiting carbonic anhydrase IX[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 637252.
- [53] ALBERTI D, MICHELOTTI A, LANFRANCO A, PROTTI N, ALTIERI S, DEAGOSTINO A, GENINATTI CRICH S. *In vitro* and *in vivo* BNCT investigations using a carborane containing sulfonamide targeting CAIX epitopes on malignant pleural mesothelioma and breast cancer cells[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 19274.
- [54] 李硕, 褚泰伟. 放射性核素标记的硼携带剂[J]. *科学通报*, 2022, 67(14): 1498-1507.
- LI S, CHU TW. Radionuclide-labeled boron delivery agents[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2022, 67(14): 1498-1507 (in Chinese).
- [55] PETRUL HM, SCHATZ CA, KOPITZ CC, ADNANE L, MCCABE TJ, TRAIL P, HA S, CHANG YS, VOZNESENSKY A, RANGES G, TAMBURINI PP.

- Therapeutic mechanism and efficacy of the antibody-drug conjugate BAY 79-4620 targeting human carbonic anhydrase 9[J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2012, 11(2): 340-349.
- [56] ANDREUCCI E, RUZZOLINI J, PEPPICELLI S, BIANCHINI F, LAURENZANA A, CARTA F, SUPURAN CT, CALORINI L. The carbonic anhydrase IX inhibitor SLC-0111 sensitises cancer cells to conventional chemotherapy[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2019, 34(1): 117-123.
- [57] LI JY, SHI KJ, SABET ZF, FU WJ, ZHOU HG, XU SX, LIU T, YOU M, CAO MJ, XU MZ, CUI XJ, HU B, LIU Y, CHEN CY. New power of self-assembling carbonic anhydrase inhibitor: short peptide-constructed nanofibers inspire hypoxic cancer therapy[J]. *Science Advances*, 2019, 5(9): eaax0937.
- [58] CHEN MM, HU JX, WANG LJ, LI YR, ZHU CH, CHEN C, SHI M, JU ZC, CAO XC, ZHANG ZQ. Targeted and redox-responsive drug delivery systems based on carbonic anhydrase IX-decorated mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 14447.
- [59] van KUIJK SJA, GIELING RG, NIEMANS R, LIEUWES NG, BIEMANS R, TELFER BA, HAENEN GRMM, YAROMINA A, LAMBIN P, DUBOIS LJ, WILLIAMS KJ. The sulfamate small molecule CAIX inhibitor S4 modulates doxorubicin efficacy[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161040.
- [60] JUNG HS, HAN JY, SHI H, KOO S, SINGH H, KIM HJ, SESSLER JL, LEE JY, KIM JH, KIM JS. Overcoming the limits of hypoxia in photodynamic therapy: a carbonic anhydrase IX-targeted approach[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(22): 7595-7602.
- [61] SU XX, WANG WJ, CAO Q, ZHANG H, LIU B, LING YY, ZHOU XT, MAO ZW. A carbonic anhydrase IX (CAIX)-anchored rhenium(I) photosensitizer evokes pyroptosis for enhanced anti-tumor immunity[J]. *Angewandte Chemie: International Ed in English*, 2022, 61(8): e202115800.
- [62] CHEN Y, BIAN XM, ALIRU M, DEORUKHKAR AA, EKPENYONG O, LIANG S, JOHN J, MA J, GAO XQ, SCHWARTZ J, SINGH P, YE YQ, KRISHNAN S, XIE H. Hypoxia-targeted gold nanorods for cancer photothermal therapy[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(41): 26556-26571.
- [63] IIKUNI S, ONO M, WATANABE H, SHIMIZU Y, SANO K, SAJI H. Cancer radiotheranostics targeting carbonic anhydrase-IX with ^{111}In - and ^{90}Y -labeled ureidosulfonamide scaffold for SPECT imaging and radionuclide-based therapy[J]. *Theranostics*, 2018, 8(11): 2992-3006.
- [64] JIANG YY, LI JC, ZENG ZL, XIE C, LYU Y, PU KY. Organic photodynamic nanoinhibitor for synergistic cancer therapy[J]. *Angewandte Chemie: International Ed in English*, 2019, 58(24): 8161-8165.
- [65] ZUO WB, FAN ZX, CHEN LP, LIU JX, WAN Z, XIAO ZM, CHEN WB, WU L, CHEN DY, ZHU X. Copper-based theranostic nanocatalysts for synergistic photothermal-chemodynamic therapy[J]. *Acta Biomaterialia*, 2022, 147: 258-269.

(本文责编 郝丽芳)