

University of Groningen

## Preclinical studies of CD103 molecular imaging to guide cancer immunotherapy

Fan, Xiaoyu

DOI:  
[10.33612/diss.776322392](https://doi.org/10.33612/diss.776322392)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2023

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Fan, X. (2023). *Preclinical studies of CD103 molecular imaging to guide cancer immunotherapy*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen.  
<https://doi.org/10.33612/diss.776322392>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.



## **Appendix**

Nederlandse samenvatting

中文总结

Acknowledgements

About the author



## Nederlandse samenvatting

Het aantal nieuwe kankerdiagnoses neemt wereldwijd toe. Het beïnvloedt niet alleen de levensduur en levenskwaliteit van mensen, maar vormt ook een aanzienlijke belasting voor de gezondheidszorg en de bekostiging hiervan. Het Global Cancer Statistics Report 2020 van het International Agency for Research on Cancer (IARC) toont aan dat er wereldwijd naar schatting 20 miljoen nieuwe gevallen van kanker waren in 2020, met een incidentie van 247,5 per 100.000 mensen. Het report voorspelt ook 9.958.133 nieuwe sterfgevallen, met een sterfte van 127,8 per 100.000 mensen. Het aantal sterfgevallen aan kanker is afhankelijk van factoren zoals het soort tumor, de leeftijd van de patiënt, geslacht, geografische locatie en sociaaleconomische status. Volgens statistieken van de Wereldgezondheidsorganisatie stierven in 2019 wereldwijd ongeveer 9,59 miljoen mensen aan kanker. Dit vertegenwoordigt ongeveer 1/6 van het totale aantal sterfgevallen wereldwijd. In ontwikkelde landen is kanker al een van de belangrijke doodsoorzaak geworden, vooral bij ouderen. Daarentegen, in landen met lage en middeninkomens wordt ongeveer 30% van de gevallen van kanker veroorzaakt door kankerverwekkende infecties zoals humaan papillomavirus en hepatitis.

De risicofactoren voor kanker zijn complex en kunnen genetische, omgevings- en levensstijlfactoren omvatten. Hoewel medische technologie en behandelmethoden voortdurend verbeteren, zijn uitgebreide maatregelen nog steeds nodig om kanker te voorkomen en behandelen. Deze maatregelen omvatten een gezonde levensstijl, vroegtijdige screening, vaccinaties en innovatieve behandelingen. Regeringen en internationale organisaties hebben verschillende maatregelen genomen om beter om te gaan met de uitdagingen van kanker, zoals het verbeteren van gezondheidsvoorlichting, het vergroten van dekking van kankerscreening, het bevorderen van onderzoek en ontwikkeling, en het promoten van innovatieve behandelingsmethoden.

De afgelopen jaren is aanzienlijke vooruitgang geboekt in de behandeling van kanker met de opkomst van immuuncheckpointremmers (ICIs). ICIs remmen negatieve regulatoren in het immuunsysteem, waardoor het eigen immuunsysteem van de patiënt wordt gestimuleerd om de kanker aan te vallen. In de afgelopen tien jaar zijn ICIs toegepast in veel verschillende soorten kankers. Er is hoop dat het toepassingsgebied in de toekomst nog verder zal uitbreiden. ICIs zijn aangetoond effectief voor diverse soorten kankers zoals melanoom, longkanker, nierkanker en colorectale kanker. Ook hebben ICIs laten zien effectief te zijn tegen gevorderde kwaadaardige tumoren waar traditionele behandelmethoden ineffectief waren.

## Appendix

Hoewel ICIs in diverse kankertypes veelbelovende therapeutische effecten hebben laten zien, profiteren niet alle patiënten van ICI-behandeling. Het lage responspercentage is momenteel een van de belangrijkste uitdagingen van behandeling met ICIs. Klinische studies laten zien dat slechts 10-30% van de patiënten met solide tumoren langdurig profiteert van ICI-behandeling. Hierdoor is er dringend behoefte aan de ontwikkeling van methoden voor het identificeren van potentiële patiënten die baart hebben bij de therapie. Hierdoor kan de klinische toepassing van deze geneesmiddelen geoptimaliseerd worden.

Op dit moment zijn er verschillende methoden beschikbaar voor het voorspellen van de effectiviteit van ICI-behandeling, waaronder:

1. Analyse van expressiemarkers op tumorcellen: Sommige studies suggereren dat de expressieniveaus van bepaalde moleculen op het oppervlak van tumorcellen, zoals PD-L1, verband houden met de effectiviteit van ICIs-behandeling. Daarom kan de analyse van deze moleculen helpen bij het voorspellen van respons.
2. Tumor Mutation Burden (TMB): Dit wordt gedefinieerd als het totale aantal mutaties per coderend gebied van het tumorgenoom. Bestaande onderzoeken suggereren dat patiënten met een hoge TMB ( $\geq 243$  niet-synonieme mutaties) mogelijk meer baat hebben bij ICIs-behandeling.
3. Bepaling van de aanwezigheid van tumor infiltrerende T-cellen: Tumor-infiltrerende lymfocyten (TIL) zijn een belangrijk onderdeel van het immuunmicroom van tumoren. De dichtheid van TIL is in verband gebracht met adaptieve regulatie van PD-L1 en klinische voordelen. Door de analyse van het aantal en type T-cellen in tumorweefsel kan de immuunstatus van de patiënt worden geëvalueerd. Dit kan helpen bij het voorspellen van de effectiviteit van de behandeling.

Echter, bestaande biomarkers, die getest worden met invasieve methoden zoals IHC-kleuring van tumorsecties om moleculaire kenmerken op het oppervlak van tumoren te analyseren of genetische testen om de tumor mutatiebelasting te bepalen, hebben niet altijd een duidelijke correlatie met respons.

Positron Emissie Tomografie (PET) is een moleculaire beeldvormingstechniek waarbij radioactieve tracers worden geïnjecteerd om de distributie en het metabolisme van specifieke moleculen in het menselijk lichaam te detecteren. PET heeft een hoge resolutie en gevoeligheid, waardoor het zeer kleine veranderingen in biomarkers kan detecteren, zoals veranderingen in metabolisme en moleculaire expressieniveaus in tumorweefsel. In vergelijking met andere beeldvormingstechnieken kan PET met hoge sensitiviteit radioactieve tracers

detecteren. Dit maakt een nauwkeurige kwantitatieve metingen mogelijk. Bovendien is PET een niet-invasieve beeldvormingstechniek waarbij patiënten geen operaties of andere invasieve procedures hoeven te ondergaan. Een PET-scan kan snel worden uitgevoerd, waardoor het een real-time dynamische beeldvormingstechniek is die tijdens de behandeling de respons van tumoren in real-time kan monitoren. Ten slotte kan PET beeldvorming tumoren door het hele lichaam detecteren, waardoor het een breed inzetbare beeldvormingstechniek is die verborgen tumoren kan opsporen. Gebaseerd op de hierboven genoemde voordelen wordt PET uitgebreid gebruikt in de kliniek voor vroegtijdige diagnose van kanker, ziektestadia en evaluatie respons op de behandeling.

Een klinische studie uitgevoerd door ons team heeft aangetoond dat patiënten met veel infiltratie van CD103<sup>+</sup> T-cellen in tumoren een betere prognose hebben tijdens de standaard behandeling van eierstokkanker, baarmoederhalskanker en endometriumkanker. CD103 komt tot expressie op verschillende soorten immuuncellen. De belangrijkste fysiologische functie ervan is binding aan E-cadherine, wat leidt tot de hechting van intra-epitheliale T-lymfocyten aan het epitheel van cellen. Bovendien toonden klinische studies bij verschillende solide tumoren aan dat CD103<sup>+</sup> tumor infiltrerende cellen een goede voorspellende waarde geeft voor de prognose van verschillende soorten solide tumoren, waaronder baarmoederhalskanker, hoofd- en nekkanker, longkanker, blaaskanker, galwegkanker, maagkanker, eierstokkanker, slokdarmkanker, colorectale kanker en melanoom. Op basis van deze bevindingen ontwikkelden we een tracer gericht voor CD103, waardoor op niet-invasieve wijze de T-celinfiltratie tijdens de behandeling met ICIs geëvalueerd kan worden. Dit stelt ons mogelijk in staat om in een vroeg stadium van de behandeling de behandelingsrespons te voorspellen en te helpen bij het classificeren van patiënten.

In het eerste deel van dit proefschrift hebben we drie verschillende soorten gehumaniseerde PET-tracers voor CD103 gesynthetiseerd, waaronder de <sup>89</sup>Zr-gelabelde anti-CD103 monoklonale antilichaamtracer (<sup>89</sup>Zr-hDC103 Mab), de <sup>89</sup>Zr-gelabelde anti-CD103 antilichaamfragmenttracer (<sup>89</sup>Zr-hDC103 Fab), en de <sup>68</sup>Ga-gelabelde anti-CD103 antilichaamfragmenttracer (<sup>68</sup>Ga-hDC103 Fab). Deze tracers zijn vervolgens preklinisch geëvalueerd in muizen (BALB/cOlaHsd-Foxn1nu) met geïmplanteerde CHO tumoren. Deze CHO tumoren waren niet gemodificeerd (CHO.K1) of brachten CD103 tot overexpressie (CHO.CD103). De muizen met getransplanteerde tumoren ondergingen opeenvolgende PET-beeldvorming na toediening van de bijbehorende tracer, gevolgd door een *ex vivo* biodistributie onderzoek. De resultaten toonden aan dat alle drie de tracers, CD103-positieve

## Appendix

cellen konden detecteren met PET in CHO.CD103-muizen. Ook lieten alle drie de tracers een hogere tumoropname zien in vergelijking met de controlegroep (muizen met CHO.K1-tumoren). De ontwikkeling en preklinische validatie van deze tracers wijzen op mogelijke klinische haalbaarheid van CD103-immuuntracers.

Bovendien werd in het tweede deel van dit project een op muis  $^{89}\text{Zr}$ -CD103 monokonaal antilichaamtracer ( $^{89}\text{Zr}$ -mCD103 Mab) ontwikkeld en gevalideerd in een gezonde muizen. In beide diermodellen vertoonde de  $^{89}\text{Zr}$ -mCD103 Mab-tracer een hogere specifieke opname in de gastro-intestinale tractus, waar CD103<sup>+</sup> cellen overvloedig aanwezig zijn, in vergelijking met de controle tracer. Verdere *ex vivo* biodistributie resultaten toonden aan dat de opname van de tracer significant verhoogd was in de dunne darm, de mesenteriale en axillaire lymfnoden in vergelijking met de controle tracer. In een behandlingsstudie met ICIs vertoonden alle muizen (7/7) een respons op de behandeling, waarbij de tumorgrootte significant afnam na behandeling. In deze studie vertoonden de controle tracer en de CD103-tracer echter geen duidelijke verschillen in tumor opname. Dit is mogelijk te herleiden aan beperkingen van het diermodel. De huidige klinische onderzoeksresultaten geven een hoopvol beeld voor de bruikbaarheid van CD103 als biomarker voor het voorspellen van behandelingsrespons. We willen meer onderzoeken verrichtten met de ontwikkelde tracers.

Samengevat, deze studie streeft ernaar, om via de ontwikkeling van verschillende soorten tracers en preklinische onderzoeken in diermodellen, een basis te leggen voor het gebruik van CD103-immuun-PET in de kliniek. Wij hopen dat de ontwikkelde gehumaniseerde CD103-immuun-PET-tracers in de toekomst in staat zijn om een niet-invasieve manier tumor-reactieve T-cel-infiltratie te beeldvormen bij patiënten. Hierdoor kunnen patiënten die mogelijk profiteren van ICIs therapieën verder worden geclassificeerd en behandeld met deze therapie.

## 中文总结

癌症是目前全球范围内的一大健康挑战，不仅影响着人们的寿命和生活质量，也给医疗系统和社会经济带来了巨大的负担。国际癌症研究机构（IARC）发布的2020年全球癌症统计报告显示，2020年全球预计新发癌症病例数19,292,789例，粗发病率247.5/10万，预计新发死亡病例数9,958,133例，粗死亡率127.8/10万。癌症的死亡率因肿瘤类型、患者年龄、性别、地理位置、经济水平等因素而异。而根据世界卫生组织的统计，2019年全球因癌症死亡的人数约为959万，占全球死亡总人数的约1/6。在发达国家，癌症已经成为人口死因的主要原因之一，尤其是在老年人中更为突出。而在低收入和中等偏下收入国家，约30%的癌症病例系由人乳头瘤病毒和肝炎等致癌感染引起。

癌症的风险因素复杂，可能涉及遗传、环境、生活方式等多种因素。虽然目前医学技术和治疗手段不断进步，但仍然需要采取综合性的措施来预防和控制癌症的发生和传播。这些措施包括健康的生活方式、早期筛查、预防接种、癌症治疗等方面。为了更好地应对癌症挑战，各国政府和国际组织已经采取了多种措施，如加强公共健康宣传、提高癌症筛查覆盖率、加大研发投入、推广创新的癌症治疗方法等，以期为人类健康做出更大的贡献。

近年来，以免疫检查点抑制剂（ICIs）为代表的癌症免疫疗法在癌症治疗领域取得了显著进展。ICIs的作用是通过抑制免疫系统中的负性调节因子，来激发患者自身的免疫系统对肿瘤的攻击作用，从而达到治疗癌症的效果。在过去的10余年中，免疫检查点抑制剂已经在多个肿瘤类型中得到了广泛的应用，并且有望在未来继续扩大适应症范围。对于黑色素瘤、肺癌、肾癌和结直肠癌等多种类型的肿瘤，免疫检查点抑制剂已被证实具有显著的抗肿瘤效果。此外，该疗法在使用传统抗癌方案无效的多种中晚期恶性肿瘤中也表现出了显著并持久的抗肿瘤效果。虽然ICIs已经被证实多种肿瘤类型中具有显著的疗效，但并非所有患者都能从ICIs治疗中获益，且患者响应率低是目前ICIs面临的主要问题之一。根据临床数据，在实体肿瘤中，大约只有10-30%左右的病人可以从ICI中持久获益。因此，亟需开发疗效预测方法来帮助识别潜在的获益人群，指导临床对此类药物的合理使用。

目前，已经有多种方法用于预测ICIs治疗的疗效，其中包括：

1. 肿瘤表面特征分子的分析：一些研究表明，某些肿瘤表面分子的表达水平，如PD-L1，与ICIs治疗的疗效有关。因此，对这些分子的分析可以帮助预测患者的治疗反应；
2. 肿瘤突变负荷（tumor mutation burden, TMB）：定义为靶基因编码区每兆碱基替换（包括同义突变）的总数量，即肿瘤基因组去除胚系突变后的体细胞突变总数量。现有研究表明，在高肿瘤突变符合的（ $\geq 243$ 个错义突变）的患者中可能会更好的收益于ICIs的治疗；



## Appendix

3. 肿瘤浸润的效应T细胞的测定：TIL是肿瘤免疫微环境中的重要组成部分，TIL 密度已被证实与 PD-L1 的适应性上调和临床益处相关。通过分析肿瘤组织中T细胞的数量和种类，可以评估患者的免疫状态，从而预测治疗的疗效。

然而无论是侵入性的手段通过IHC染色切片分析肿瘤表面特征分子，还是通过基因检测测定肿瘤突变负荷，随着临床研究的推进，我们发现现有的生物标志物与治疗反应之间并不总是存在明确的相关性。

正电子发射断层扫描（PET）是一种分子成像技术，它可以通过注射放射性示踪剂来检测人体内特定分子的分布和代谢情况。PET的空间分辨率和灵敏度都很高，这使其可以检测到非常微小的生物标记物的变化，例如肿瘤组织中的代谢和分子表达水平的变化。与其他成像技术相比，PET对放射性示踪剂的探测非常敏感，因此可以提供非常精确的定量测量。此外，PET扫描是一种无创性的成像技术，患者不需要进行手术或其他侵入性操作即可接受检查。PET扫描可以在短时间内完成，这使其成为一种实时动态的成像技术，可以在肿瘤治疗期间对肿瘤的反应进行实时监测。最后，PET扫描可以检测全身各部位的肿瘤病灶，这使其成为一种全身性的成像技术，可以发现隐藏的肿瘤病变。基于其以上所述的多种优势，在现有的临床实践中，PET被广泛用于癌症的早期诊断、疾病的分期和疗效评估。

本课题组的一项前期临床研究表明，在卵巢癌、宫颈癌和子宫内膜癌的标准化治疗过程中，肿瘤内存在较多CD103<sup>+</sup>T细胞浸润的患者预后较好。CD103在多种类型的免疫细胞中表达，它在体内基本的生理功能是与E-钙黏蛋白结合，介导上皮内T淋巴细胞与上皮细胞单层的粘附。随后在多个实体肿瘤的临床研究显示，CD103<sup>+</sup>肿瘤浸润细胞对多种类型的实体瘤预后有着较好的预测作用，包括宫颈癌、头颈部鳞状细胞癌、肺癌和膀胱癌、胆管癌、胃癌、卵巢癌、食道鳞状细胞癌、结直肠癌和黑色素瘤。综上所述，我们希望开发出靶向CD103的免疫示踪剂，用于非侵入性地评估免疫检查点抑制剂治疗期间的T细胞浸润情况，以便我们能够在治疗的早期阶段预测治疗效果，并帮助对患者进行分类。

在本论文的第一部分，我们合成了三种不同类型的人源化抗CD103 PET示踪剂，包括<sup>89</sup>Zr标记的抗CD103单克隆抗体示踪剂（<sup>89</sup>Zr-hDC103 Mab），<sup>89</sup>Zr标记的抗CD103抗体片段示踪剂（<sup>89</sup>Zr-hDC103 Fab），以及<sup>68</sup>Ga标记的抗CD103抗体片段示踪剂（<sup>68</sup>Ga-hDC103 Fab），并在皮下接种了CD103过表达的CHO细胞（CHO.CD103）或野生型CHO细胞（CHO.K1）的裸鼠（BALB/cOlaHsd-Foxn1nu）体内进行了初步的临床前评估。荷瘤裸鼠在给予相应示踪剂后进行连续的PET成像，随后进行体外生物分布研究。实验结果表明，与对照组（CHO.K1肿瘤携带小鼠）相比，三种示踪剂都能在CHO.CD103小鼠的PET扫描中观察到CD103阳性细胞，三种示踪剂都表现出更高的肿瘤摄取量。以上示踪剂的开发与临床前验证，为CD103免疫示踪剂向临床转化提供了初步的临床前实验证据。

此外，在这个项目的第二部分，开发了一种基于小鼠的<sup>89</sup>Zr-CD103单克隆抗体示踪剂（<sup>89</sup>Zr-mCD103 Mab），并在健康小鼠模型中进行了验证。在这两种动物模型中，与对照组示踪剂相比，<sup>89</sup>Zr- mCD103 Mab示踪剂在富含CD103+细胞的胃肠道中显示出更高的特异性摄取。体外生物分布数据进一步显示，与对照示踪剂相比，小肠、肠系膜淋巴结和腋窝淋巴结的示踪剂摄取量显著性增高。在治疗研究中，所有的小鼠都对治疗有反应（7/7），治疗后肿瘤大小显著性减少。然而，在荷瘤小鼠模型内，由于动物模型的限制，对照组示踪剂和CD103示踪剂之间没有明显差异。目前的临床研究结果使我们相信，CD103仍然是一个适合预测疗效的生物标志物，我们打算采用本研究开发的示踪剂继续进行未来的研究。

综上所述，本研究希望通过开发多种类型的示踪剂、利用动物模型对其体内表现进行初步的临床前探索，为CD103免疫PET在临床中的应用提供基础。希望未来这些人源化的CD103免疫PET示踪剂能够在病人体内显示非侵入性肿瘤反应性T细胞浸润评估，对未来可能从免疫检查点抑制治疗中受益的患者进行分层，从而使肿瘤患者进一步受益。



## Acknowledgements

When I embarked on this journey alone in a foreign country, I initially thought that four years of doctoral study seemed very long. However, as I now look back on completing my PhD, I realize that it was only a small part of my life journey. Despite the challenges and triumphs along the way, the path I traveled was filled with kindness and acceptance.

First and foremost, I would like to express my gratitude to the **Chinese Scholarship Council (CSC)** and **Prof. Philip Elsinga** for granting me the opportunity to study abroad for my PhD at the University Medical Center Groningen and for providing me with the opportunity to tell this wonderful story.

I hold a profound sense of gratitude towards my supervisor, **Prof. Philip Elsinga**, for extending his acceptance to me as a doctoral candidate and for affording me the opportunity to embark on this distinctive and remarkable journey that has led me to all of you here in Groningen, the Netherlands. Your seasoned guidance has consistently illuminated my path, providing me with the counsel I sought whenever it was needed. Your unassuming demeanor has left a lasting impression on me; despite your position as my mentor and your substantial accomplishments in your field, your humility shines through in your interactions with everyone.

Secondly, I would like to express my gratitude to my other promoter **Prof. Hans Nijman**, who inspired me with his dedication to helping patients and passion for his work. Your critical attitude towards research always motivated me to push myself harder to do better. I would like to thank you for all the trust, support and kindness you have given me, thank you for your guidance, encouragement and creative ideas.

Third, my sincere gratitude goes to my copromoter and daily supervisor **dr. Marco de Bruyn**. Thank you for your brilliant idea, encouragement and guidance. Sorry for bothering you a lot with all these weird results and accident during the experiment. I am so impressed by your quick thinking, great knowledge and unique insights into science. You were always there at critical times and asked key questions. Thank you for the tremendous effort you put into your thesis and dissertation. You have been extremely supportive and caring of my PhD studies.

Last but not least, I would like to show my great thanks to my copromoter and daily supervisor **dr. Arjan Kol**. Thank you for being patient and guiding me at the beginning of this journey when I had no idea about my PhD thesis. Thank you

## *Appendix*

for being so patient with me at the beginning when I made such silly mistakes and joked to me that it would be okay as long as the lab didn't explode. I am very grateful to you for leading me into this project and helping me get settled in the program. I am glad to have you during my PhD and thank you again for all the support and kindness you have given me.

I would also like to thank my committee **prof. Marjolijn. N. Lub-de Hooge, prof. Wijnand Helfrich, dr. Daniëlle Vugts** for their insightful comments, constructive feedback and support throughout the years. I am grateful for the opportunities they provided me to grow both professionally and personally.

My sincere thanks to the **imaging group, Marjolijn, Steven, Hetty, Cobby, Arjan, Danique, Linda, Claudia, Frank, Sarah and Noemi**. I really enjoyed the Thursday morning imaging meeting at 8am and gained a lot of knowledge, although I may have complained a little bit about the start time of the session. Your constructive discussions, comments and suggestions after each presentation made the session very meaningful. Thank you all for sharing your brilliance and insights and I feel deeply blessed to be a part of this team. Besides the science, I really appreciate all the wonderful times we have outside the office, Sinterklaas, birthday cakes, game nights... When I look back on my journey here, this will always be the shining moment.

Such a great memory with all my colleagues in the office! **Claudia, Ellen, Jiske, Jolien, Linda**, thank you for providing such a friendly atmosphere in the office! The wonderful times we shared over coffee and all the events we attended together will be sorely missed. Thank you for introducing me to the diverse Dutch culture, and for exchanging our views on the world. I really enjoyed the good times I had with you!

My sincere thanks to the colleagues from the "**Dream Team**" at the department of Obstetrics and Gynaecology. **Annechein, Anneke, Floris-Jan Haan, Koen, Marta & Marta, Ninke, Noemi and Koen**, thanks for giving me the opportunity to become part of this team, I learned a lot about immunology here, which was an indispensable part to write the book, and all the critical discussions in this group inspired me a lot!

Thank you to all my colleagues in the **multidisciplinary oncology laboratory (MOL lab)**. The great atmosphere of the lab and your help in learning new techniques made my time there very enjoyable while doing my experiments. Also,

thanks to Hetty Coby, Jolien, Neelje, the Oncologie Ordersmol team, Mark and all the technical staff working in the lab for your great contribution to make the MOL lab such a great lab!

I would also like to express my deep gratitude to all these kind people who always lend a helping hand to save my bumpy PhD life.

Thank you, **Jurgen Sijbesma**, for always taking care of the MicroPET scanner and always coming to the rescue in case of problems.

Thanks to **Rolf, Hilde, Stefan**, and **Linda** for the great help in Blab and CLab, you are always my best support whenever I have problems there!

Thank you **Annechein** for all the great sectioning techniques! Thank you so much for your help with FFPE tissue processing throughout my animal studies!

Thank you **Michel, Daryll**, for training me in all these useful skills at CDP. I really could not have started my research without your training, you are such experienced and patient teachers.

I would like to express my sincere gratitude to the **experimental animals** that participated in this research. Their contribution was essential to the advancement of knowledge in our field and has led to a deeper understanding of *in vivo* behavior of the tracer. I acknowledge that the use of animals in research is a sensitive and controversial issue. I assure that all experiments were conducted in accordance with the ethical guidelines set forth by Competent Authority (CCD). Every effort was made to minimize any discomfort or harm to the animals. I am grateful for the opportunity to study the biology of these animals and for the insights gained through this research.

Thank you, 云潮, you are such a strong and beautiful woman. Your deep passion for extreme sports has influenced me to step out of my comfort zone, to try many new things, and to gain numerous new life experiences.

Thank you, 羽婷, I really appreciate your unhurried attitude and tolerance for life in any situation. Your love for life has influenced me to learn to cook and enjoy the process of creating good food as a person who can only cook instant noodles.

Thank you, 阳, my best trash-talking sister. I've lost count of the number of

## *Appendix*

times we've shared our work woes and lifted each other's spirits with words of encouragement. Your wit and humor effortlessly defused my negative feelings.

Thank you to all the friends I met in Groningen, 梅姐, 丹姐, 思齐, 玉竹, 梦婷, 梁东, 淑然, 宇晟... I've been so lucky to meet everyone here and have had such a great time with you all, and while I can't list everyone here, I look forward to many more friendships, adventures, and fun in the future. Thank you all for being here!

Special thanks to my online spiritual pillars from China 关心范小二生活协会 and 王一博. Although we have an eight-hour time difference, we still share our lives through the internet and witness each other's growth together. Thank you for chatting with me across time zones, sharing your life experiences and giving me great support.

I would like to express my sincere gratitude to my parents. Their unwavering support, encouragement, and love have been the driving force behind my completion of this work. Their care and support throughout my life have given me the strength to keep moving forward even in the most challenging moments. I am lucky to have such generous, loving, understanding, and supportive parents. My success would not have been possible without their support, and I will always be grateful to them.

感谢我的父母, 感谢你们爱我但从未溺爱。这世界精彩又危险, 感谢你们给我放手一搏的底气和勇气。

The life of a PhD student always has its ups and downs, just like everything else. In any case, four years of valuable experiences have permanently built Groningen into my character. Throughout our long trip through life, we may meet new people and embark on new lives, but all the priceless and joyful memories of our adventures together will always stay in my memory and become a part of me. I constantly dream of the day when we shall unexpectedly cross paths again someplace on this planet or in the cosmos.

Dear all, thank you all for being a part of my great journey. Have fun with your life!

### **About the author**

Xiaoyu Fan was born on January 29<sup>th</sup>, 1995 in Zhangye, China. She studied pharmacy during her bachelor at Shenyang Pharmaceutical University in China. In July 2019, she got her degree of Master of Philosophy Pharmacology from Peking Union Medical College under the supervision of Prof. dr. Hongtao Jin. In the master program, she has done preclinical safety evaluations which focused on hypersensitivity immune reaction of multiple drugs. In November 2019, she came to the University Medical Center Groningen and decided to broaden her research topics and expand her knowledge. She studied in the Department of Nuclear Medicine and Molecular Imaging under the supervision of Prof. dr. Philip Elsinga. Her PhD topic focused on the preclinical development and evaluation of immunoPET tracer.