

放疗后早期肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布 与 Survivin、Caspase-3 蛋白表达的相关性研究

张 欣¹, 李亚明², 张延军¹, 季晓鹏³, 陶 莉¹, 张剑英⁴,
赵贞贞⁴, 朱 毅¹, 杨 春¹, 赵 明³, 田爱娟³

(1. 大连医科大学附属第一医院 核医学科, 辽宁 大连 116011;

2. 中国医科大学附属第一医院 核医学科, 辽宁 沈阳 110001;

3. 大连医科大学附属第二医院 核医学科, 辽宁 大连 116023;

4. 北京师范大学 化学学院, 放射性药物教育部重点实验室, 北京 100875)

摘要: 采用⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 作为凋亡显像示踪剂, 观察小鼠放疗后早期肿瘤组织内 Survivin、Caspase-3 蛋白表达。结果显示, 放疗组肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布、TUNEL 检测阳性细胞数及 Caspase-3 蛋白表达均明显多于对照组, Survivin 蛋白表达 A 组明显高于 B 组, 差异均存在显著性(P 均 <0.01)。相关性研究表明, 肿瘤组织的放射性摄取与 TUNEL 阳性细胞数呈明显正相关($r=0.942, P=0.000$); 肿瘤组织内 Survivin 蛋白表达与 Caspase-3 蛋白表达呈明显负相关($r=-0.836, P=0.000$)。肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-Annexin V 分布与 Caspase-3 蛋白表达呈明显正相关($r=0.948, P=0.000$), 与 Survivin 蛋白表达呈明显负相关($r=-0.819, P<0.01$)。以上结果提示, 肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 的分布可以反映放疗后早期肿瘤组织细胞凋亡的状况以及凋亡调控蛋白 Survivin、Caspase-3 表达水平的变化。

关键词: ⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V; survivin; caspase-3; 表达; 相关性

中图分类号: Q691.4; R817.1 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2008)01-0029-07

Distribution of ⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V and Its Relationship With Expression of Survivin, Caspase-3 in Tumor Early After Radiotherapy

ZHANG Xin¹, LI Ya-ming², ZHANG Yan-jun¹, JI Xiao-peng³, TAO li¹, ZHANG Jian-ying⁴,
ZHAO Zhen-zhen⁴, ZHU Yi¹, YANG Chun¹, ZHAO Ming³, TIAN Ai-juan³

(1. Department of Nuclear Medicine, The First Hospital Affiliated
to Dalian Medical University, Dalian 116011, China;

2. Department of Nuclear Medicine, The First Hospital Affiliated
to China Medical University, Shenyang 110001, China;

3. Department of Nuclear Medicine, The Second Hospital Affiliated
to Dalian Medical University, Dalian 116023, China;

4. Key Laboratory of Radiopharmaceuticals (Beijing Normal University),

Ministry of Education, College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

收稿日期: 2007-07-16; 修回日期: 2007-09-24

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究项目(20060204)

作者简介: 张欣(1973~), 男(汉族), 辽宁铁岭人, 副教授(医学博士), 影像医学与核医学专业

通信作者: 李亚明, 男, 教授, 博士生导师。联系电话: 024-23256666-6142; E-mail: ymli2001@163.com

Abstract: The early expression of Survivin and Caspase-3 in tumor cells after radiotherapy with $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -rh-annexin V as the tracer of apoptosis imaging was studied. Tumor cell apoptosis was examined by TUNEL methods, and the expressions of Survivin and Caspase-3 in tumor cells was determined with immunohistochemical methods. Radiotherapy significantly increased the tumor uptake of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -rh-annexin V and the positive number of TUNEL, as well as the expression of Caspase-3 ($P < 0.010$). The expression of Survivin was significantly high in contrast group than in treated group ($P < 0.010$). The distribution in tumor correlated well with the positive number of TUNEL in contrast group and treated group ($r = 0.942$, $P = 0.000$). The expression of Survivin correlated negatively with the expression of Caspase-3 the two group ($r = -0.836$, $P = 0.000$). The accumulation of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -rh-annexin V in tumor correlated positively with the expression of Caspase-3 ($r = 0.948$, $P = 0.000$), and correlated negatively with the expression of Survivin ($r = -0.819$, $P = 0.000$). The distribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -rh-annexin V can not only truly reflected the degree of apoptosis in tumor, but also the change of survivin and caspase-3 expression early after radiotherapy.

Key words: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -rh-annexin V; survivin; caspase-3; expression; relationship

在肿瘤治疗中,早期评价治疗后肿瘤细胞的凋亡状态可为临床及时调整治疗方案提供基础,并可在提高治疗效果的同时避免无效的治疗所带来的副损伤。但早期评价治疗后肿瘤细胞的凋亡状态还存在一定问题,如目前常用的原径末端标记法(TUNEL)检测及流式细胞分析技术等,均需要进行有创伤性取材,因此临床应用受到极大限制。放射性核素标记的重组膜联蛋白 V (rh-Annexin V) 显像作为一种无创性体内检测细胞凋亡的技术^[1-3],无疑为临床早期无创性地评价肿瘤细胞的凋亡状态带来了极大希望。

Annexin V 是一种内源性生理蛋白,相对分子质量为 36 000,像许多 Annexin 成员一样,Annexin V 广泛存在于真核生物的各种器官及组织中。磷脂酰丝氨酸(PS)是构成细胞膜的磷脂成分,正常情况下只存在于细胞膜的内侧。凋亡早期,PS 由细胞内膜移向外膜,暴露于细胞表面。在 Ca^{2+} 存在下,Annexin V 可与凋亡早期细胞外在表达的 PS 快速而紧密地结合。放射性核素 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的 Annexin V 类示踪剂,与体内生理性的 Annexin V 具有相似的生物学特征,同样能够与暴露于凋亡细胞膜表面的 PS 紧密结合^[4]。因此将此类示踪剂引入体内,通过体外探测示踪剂在体内的分布。达到无创性检测细胞凋亡的目的。由于 PS 的外翻在细胞凋亡过程中出现的时间明显早于 DNA 的降解及可辨认的细胞形态学改变,因此除了无创性外,能够早期检测细胞的凋亡也是此类方法最大的

优势之一。

细胞凋亡不是可有可无的无序现象,而是一系列基因、蛋白严密调控下的具有生化及形态学特点的细胞自杀行为,其中 Caspase (CysteinyI Aspartate-Specific Proteinase) 蛋白是细胞凋亡的核心环节,它级联式激活并溶解蛋白酶,决定了凋亡形态的变化^[5]。Caspase-3 是 Caspase 家族中最重要的成员之一,大多数触发细胞凋亡的因素,最终均需要通过 Caspase-3 介导的信号传导途径导致细胞凋亡,属于凋亡通路的末端效应因子^[6]。Survivin (又称存活素或存活蛋白)是迄今发现最强的凋亡抑制因子(Inhibiter of Apoptosis Protein, IAP)^[7],与其它的 IAP 在各种正常成人组织中的广泛表达不同,Survivin 除了在胎盘及胸腺组织中有微弱表达之外,在其它成人正常组织中均检测不到,而在大多数人类恶性肿瘤组织中明显表达。Survivin 基因的激活在肿瘤细胞的异常增殖及抗凋亡机制中起重要作用,并与肿瘤耐药、复发均有关,是判断肿瘤疗效及预后的重要指标^[8]。研究表明,Survivin 对 Caspase-3 的前体酶原形式及两条活化形式均有抑制作用^[9-11]。Caspase-3 蛋白及 Caspase-7 蛋白是 Caspase 引起细胞凋亡的最下游成分,同属于凋亡通路的终末效应蛋白;Survivin 可以直接作用于 Caspase-3 和 Caspase-7,一方面与有活性的 Caspase-3、Caspase-7 特异性结合使其失活,另一方面也能阻止 Caspase-3 和 Caspase-7 的自身激活抑制细胞凋亡,从而起到抑制凋亡的

作用。

本工作拟采用⁹⁹Tc^m 直接标记法标记 rh-Annexin V 作为核素凋亡显像示踪剂,观察其在接受直线加速器放疗后小鼠肿瘤组织内的分布状况,并进一步探讨其与凋亡调控蛋白 Survivin、Caspase-3 表达的相关性。

1 主要实验材料

1.1 主要试剂及仪器

rh-Annexin V:每支 30 μg,由 Bender Med systems 公司提供;还原剂冻干品:主要成分为 100 μg 的 SnCl₂ · 2H₂O,由北京师范大学化学学院朱霖教授惠赠;TUNEL 检测试剂盒购自罗氏公司(In Site Cell Death Detection Kit, AP);免疫组化 SP 试剂盒:由 NEOMARKERS 公司生产,购自北京中山生物技术公司;⁹⁹Mo-⁹⁹Tc^m 发生器:原子高科股份有限公司;Hawkeye SPECT:配备低能高分辨平行孔准直器,GE 公司产品;VARIAN-2300 C/D 型医用直线加速器;VARIAN 公司产品;FT-603 型 γ 闪烁计数器:北京核仪器厂生产。

小鼠肝癌细胞 Hca-F25:由大连医科大学附属第二医院中心实验室提供,制备成单细胞悬液,浓度为 10¹⁰/L。

1.2 实验动物及动物模型制备

纯系雄性 615 小鼠:19 只,20 ± 2 g,大连医科大学实验动物中心提供。将小鼠肝癌细胞 Hca-F25 按每只 0.1 mL 接种于小鼠右腋下;8 d 后,肿瘤生长至直径约 1 cm 时用于实验。

2 实验方法

2.1 rh-Annexin V 的⁹⁹Tc^m 标记

参考文献[12, 13]对 rh-Annexin V 进行⁹⁹Tc^m 标记:将 30 μg rh-Annexin V 用 0.5 mL 生理盐水溶解,注入装有还原剂的试剂瓶中,迅速加入 1 mL 约 740 GBq/L ⁹⁹Tc^mO₄⁻,室温下静置 20 min。采用丙酮/新华 1 号滤纸、生理盐水/硅胶快速层析滤纸(ITLC-SG)双体系测定标记物的标记率及放化纯度。

2.2 动物实验

将接种 Hca-F25 细胞的小鼠随机分为对照组(9 只)和放疗组(10 只),放疗组按不同照射剂量(2、5、10 Gy)又分为 1(n=4)、2(n=3)、3(n=3)3 个亚组。对照组小鼠固定于鼠板上进行假

放射治疗,即仅将小鼠固定于板上,保持 2 组小鼠处于同一应激状态。在进行放射性治疗时,放疗组小鼠接受能量为 6 MeV X 射线放射治疗,皮源距为 100 cm,照射野为 1.75 cm × 1.75 cm。放疗结束后 1 h,两组小鼠同时由鼠尾静脉注入 0.1 mL(约 3.7 MBq)⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V,4 h 后分别显像、处死、取材。

2.2.1 显像 将小鼠仰卧固定于 SPECT 探头视野中央,采集矩阵为 128 × 128,放大倍数为 3.0,采集时间设定为 10 min。

2.2.2 标本取材及示踪剂分布检测 小鼠显像后即刻摘除眼球取血,并断颈处死,取肿瘤组织称重后置于 γ 计数器内测量其放射性计数,并计算其每克组织百分注射剂量率(%ID/g)。

2.3 TUNEL 检测细胞凋亡

对肿瘤组织进行放射性计数测量后,即刻采用 10% 甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋,连续切成 3~5 μm 厚的薄片,用 TUNEL 试剂盒检测肿瘤组织内的凋亡细胞。判断标准:细胞核染色呈紫红色为阳性。400 倍视野下任选 10 个视野对阳性细胞计数并取均值。

2.4 Survivin、Caspase-3 蛋白表达分析

采用免疫组化 SP 法检测肿瘤切片标本中 Survivin、Caspase-3 蛋白的表达。判定标准:反应物应呈棕黄色颗粒,主要位于胞浆内。采用美国 RMAZEPRO-PLUS4.5 图像分析软件分析结果,400 倍视野下任选 5 个视野检测其灰度值(阳性着色部位/整个视野 × 100%)取均值。

2.5 统计学处理

计量资料数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,相关性研究采用一元线性相关及回归分析。数据处理使用 SPSS10.0 统计分析软件,以 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果与讨论

3.1 标记结果

采用丙酮作为展开体系时,⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 的 $R_f = 0 \sim 0.1$,丙酮/新华 1 号滤纸、生理盐水/硅胶快速层析滤纸(ITLC-SG)双体系检测结果显示,标记率 > 98%,比活度为 7.4~8.8 TBq/g。标记完毕后将示踪剂稀释为 37~74 GBq/L。

3.2 显像结果

小鼠 SPECT 显像结果示于图 1。图 1 显

示,经放疗诱导后 1 h 内,放疗组小鼠肿瘤组织显影清晰(图 1a 中箭头所示),强度明显高于周边及对侧正常组织;对照组小鼠肿瘤组织未见显影,肿瘤部位放射性与本底水平相近(图 1b)。这一结果提示:在经放疗诱导后早期(肿瘤组织无形态学变化之前),小鼠肿瘤组织内即出现了大量的凋亡细胞,因此肿瘤组织内凋亡示踪剂摄取较对照组明显增加。

3.3 肿瘤组织内示踪剂分布及 TUNEL、Survivin、Caspase-3 表达和相关性分析

肿瘤组织的 TUNEL、Survivin、Caspase-3 免疫组化结果示于图 2。由图 2 可以看出,荧光

显微镜下凋亡细胞核呈绿色(图 2a);核快红复染后凋亡细胞核呈紫红色(图 2b);Survivin、Caspase-3 蛋白均为胞浆表达,反应物均为棕黄色颗粒(图 2c 及图 2d)。

肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-Annexin V 的分布及 TUNEL、Survivin、Caspase-3 表达结果列于表 1,其相关性分析结果分别示于图 3 和图 4。由表 1 可知,放疗后早期,放疗组肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-Annexin V 的分布及 TUNEL 检测阳性细胞数均明显多于对照组($P < 0.01$);相关性分析(图 3)表明,两组肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-Annexin V 分布与 TUNEL 阳性细胞数均呈明显正相关

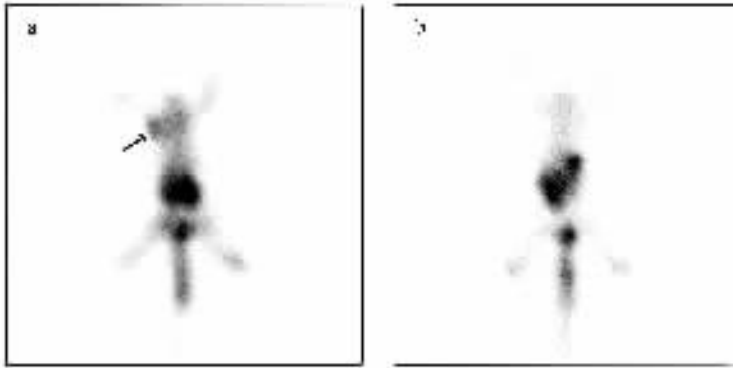


图 1 小鼠的 SPECT 显像结果
a—— 放疗组; b—— 对照组; 箭头所指为肿瘤

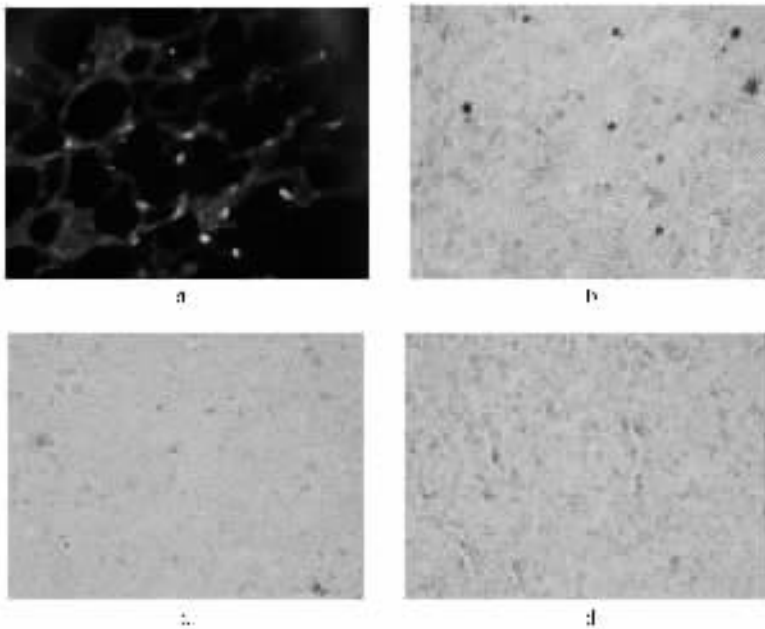


图 2 肿瘤组织 TUNEL 检测及 Survivin、Caspase-3 免疫组化结果

($n=19, r=0.942, Y=0.0216X+0.185, F=134.881, P=0.000$);在对照组与放疗组内相关系数 r 分别为 0.801、0.846 ($P<0.010$)。该结果与国内外多数实验研究结果^[14-17]相一致,提示应用⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 显像早期评价放疗

后肿瘤组织的细胞凋亡状态是切实可行的;但对于这一显像技术是否适用于不同病理类型的肿瘤,是否可单独依此判断肿瘤的疗效及预后,尚待进一步探讨。

表 1 肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布及 TUNEL、Survivin、Caspase-3 蛋白检测结果

组别	放射性摄取/(%ID·g ⁻¹)	TUNEL 阳性细胞数	Survivin 蛋白所占比例/%	Caspase 蛋白所占比例/%
对照组	0.33±0.06	6.74±2.32	4.23±0.64	3.46±0.51
放疗组	0.56±0.11	16.16±5.33	2.39±0.39	3.49±0.45
F	28.672	23.853	8.325	32.616
P	0.000	0.000	0.01	0.000

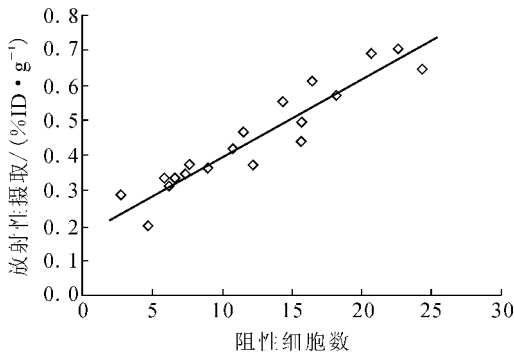


图 3 肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布与 TUNEL 检测结果的相关性分析

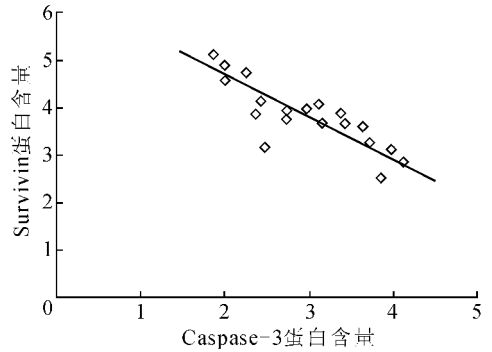


图 4 肿瘤组织内 Survivin 与 Caspase-3 蛋白表达的相关性分析

表 1 还显示,放疗组肿瘤组织内 Caspase-3 蛋白表达均明显多于对照组,而 Survivin 蛋白表达明显低于对照组,差异均存在显著性 ($P<0.01$)。这一结果表明, Survivin 蛋白和 Caspase-3 蛋白在放疗及未经治疗的小鼠肝癌组织中均有明显表达,而未经治疗的肿瘤组织内 Survivin 蛋白表达并不能完全抑制 Caspase-3 蛋白的表达。其原因可能是由于肿瘤组织细胞增殖及新陈代谢异常活跃,导致 Caspase-3 作为凋亡过程的执行者在细胞中的表达也相应增加,但相对于细胞的过度增殖,细胞的凋亡增加并不能抑制肿瘤的生长,因此总体上肿瘤组织依然呈现出过度生长状态;而放疗组中,肿瘤组织内 Survivin 蛋白表达明显减弱,其对 Caspase-3 的抑制作用也相应减弱,因而 Caspase-3 蛋白的表达水平在化疗后明显升高,导致凋亡细胞的数量明显增加。相关性分析结果(图 4)表明, Survivin 与 Caspase-3 蛋白表达之间呈明显负相关 ($n=19, r=-0.836, Y=-0.793X+6.174, F=39.358,$

$P=0.000$);在对照组与放疗组内相关系数 r 分别为 $-0.718, -0.821 (P<0.05)$;这与国内外的部分研究结果一致,但由于 Survivin 在细胞周期中呈周期依赖性表达(在 G2/M 期呈高表达),加之体内与体外实验的差异以及肿瘤细胞生物学特征的不同,也有部分研究发现,虽然两者表达呈一定负相关,但回归分析无明确直线相关关系。

本研究还探讨了⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布及 TUNEL 阳性细胞数与 Survivin、Caspase-3 蛋白表达的相关性,结果列于表 2。表 2 显示,在肿瘤组织内,⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布、TUNEL 阳性细胞数与 Caspase-3 蛋白表达呈明显正相关,与 Survivin 蛋白呈明显负相关。这一结果表明,⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 显像不仅可以通过图像从宏观上显示治疗前后肿瘤组织细胞凋亡状态的改变,亦有望通过定量其在肿瘤组织内的分布,从微观角度反映凋亡调控蛋白 Survivin、Caspase-3 在细胞凋亡过程中表达水

平的变化。

3.4 不同照射剂量对⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 生物分布的影响

不同照射剂量下,⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 在小鼠体内的分布列于表 3。由表 3 可以看出,不同剂量的放疗诱导小鼠肝癌细胞凋亡的程度也不尽相同。第 2 组(接受 5 Gy 放疗)肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布及 TUNEL 阳性细胞数明显多于第 1 组(2 Gy),而第 3 组(10 Gy)反而较第 2 组明显减少,差异均存在显著性($P < 0.05$),B1、B3 组间比较差异无显著性($P > 0.05$)。这一现象的产生可能与肿瘤放疗中的时

间-剂量依赖性有关,即在一定剂量范围内,随着剂量增加,凋亡指数也随之增加,开始较快,之后趋缓,逐渐变平,进一步增大剂量反而会降低凋亡指数^[18]。就本实验而言,可能由于在接受 2 Gy 及 5 Gy 放疗时,肿瘤细胞死亡的方式主要以凋亡为主,而在接收 10 Gy 放疗时,坏死细胞数量增加,凋亡细胞比例则有所减少。肿瘤组织 HE 染色显示第 3 组确实较其他组出现了更多的坏死组织,但由于按不同照射剂量分组较少,且缺少相关定量分析的结果,因此还有待进一步研究加以验证。

表 2 Survivin、Caspase-3 蛋白表达与⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布的相关性

组别	相关系数和相关方程	
	Survivin	Caspase-3
A 组	$r = -0.708, Y = -7.391X + 6.677$ ($F = 7.035, P = 0.033$)	$r = 0.695, Y = 4.617X + 0.834$ ($F = 6.544, P = 0.038$)
B 组	$r = -0.839, Y = -3.845X + 5.604$ ($F = 19.067, P = 0.002$)	$r = 0.958, Y = 3.901X + 1.328$ ($F = 88.185, P = 0.000$)
A+B 组	$r = -0.819, Y = -3.836X + 5.551$ ($F = 34.734, P = 0.000$)	$r = 0.948, Y = 4.677X + 0.858$ ($F = 151.374, P = 0.000$)

表 3 Survivin、Caspase-3 蛋白表达与 TUNEL 阳性细胞数相关性

组别	相关系数和相关方程	
	Survivin	Caspase-3
A 组	$r = -0.761, Y = -0.208X + 5.631$ ($F = 9.647, P = 0.017$)	$r = 0.828, Y = 0.138X + 1.459$ ($F = 15.235, P = 0.006$)
B 组	$r = -0.824, Y = -0.099X + 5.158$ ($F = 16.902, P = 0.003$)	$r = 0.922, Y = 0.098X + 1.812$ ($F = 45.389, P = 0.000$)
A+B 组 ($n = 19$)	$r = -0.809, Y = -0.087X + 4.888$ ($F = 32.144, P = 0.000$)	$r = 0.959, Y = 0.108X + 1.633$ ($F = 196.664, P = 0.000$)

表 4 不同放疗剂量下肿瘤组织内

⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 分布及 TUNEL 检测结果

剂量/Gy	放射性分布(%ID·g ⁻¹)	TUNEL 阳性细胞数
2	0.506 1 ± 0.108 8 ¹⁾	14.575 ± 3.226 ¹⁾
5	0.680 7 ± 0.030 2	22.533 ± 1.801
10	0.496 2 ± 0.0571 ^{1),2)}	15.233 ± 0.723 ^{1),2)}

注:1)为与 5 Gy 比较差异存在显著性($P < 0.05$);

2)为与 2 Gy 比较差异无显著性($P > 0.05$)

4 结 论

本工作的初步研究结果表明,⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 显像可以用于早期评价放疗后肿瘤细胞的凋亡状态,且肿瘤组织内示踪剂的分布可间接反映凋亡调控蛋白 Survivin、Caspase-3 在肿瘤细胞凋亡过程中表达水平的变化。

参考文献:

- [1] BELHOCINE T, STEINMETZ N, HUATINX R, et al. Increased Uptake of the Apoptosis-imaging Agent ⁹⁹Tc^m Recombinant Human Annexin V in Human Tumors After One Course of Chemotherapy as a Predictor of Tumor Response and Patient Prognosis [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8 (9): 2 766-2 774.
- [2] Van de WIELE C, LAHORTE C, VERMEERSCH H, et al. Quantitative Tumor Apoptosis Imaging Using Technetium-99m-HYNIC Annexin V Single Photon Emission Computed Tomography [J]. J Clin Oncol, 2003, 21(18): 3 483-3 487.
- [3] KARTACHOVA M, HAAS R, OLMOS R, et al. In Vivo Imaging of Apoptosis by ⁹⁹Tc^m-Annexin V Scintigraphy: Visual Analysis in Relation to Treatment Response [J]. Radiotherapy & Oncology, 2004, 72(3): 333-339.
- [4] BLANKENBERG FD, OHTSUKI K, STRAUSS GW. Dying a Thousand Deaths: Radionuclide Imaging of Apoptosis [J]. Q J Nucl Med, 1999, 43 (2): 170-176.
- [5] DEPRAETERE V, GOLSTEIN P. Dismantling in Cell Death: Molecular Mechanisms and Relationship to Caspase Activation [J]. Scand J Immunol, 1998, 47(6): 523-528.
- [6] WOLF BB, SUCHULER M, ECHEVERRI F, et al. Caspase-3 is the Primary Activator of Apoptotic DNA Fragmentation via DNA Fragmentation Factor 45/inhibitor of Caspase Activated Dnase Activation [J]. J Biol Chem, 1992, 274 (43): 30 651-30 660.
- [7] LACASSE EC, BAIRD S, KORNELUK RG, et al. The Inhibitors of Apoptosis (IAPs) and Their Emerging Role in Cancer [J]. Oncogene, 1998, 17 (25): 3 247-3 259.
- [8] COHEN C, LOHMANN CM, COTSONIS G, et al. Survivin Expression in Ovarian Carcinoma: Correlation With Apoptotic Markers and Prognosis [J]. Mod Pathol, 2003, 16(6): 574-583.
- [9] TAMM I, WANG Y, SAUSVILLE E, et al. IAP-family Protein Survivin Inhibits Caspase Activity and Apoptosis Induced by Fas (CD95), Bax, Caspase, and Anticancer Drugs [J]. Cancer Res, 1998, 58(23): 5 315-5 320.
- [10] WANG CY, MAYO MW, KORNELUK RG, et al. NF-KappaB Antiapoptosis: Induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to Suppress Caspase-8 Activation [J]. Science, 1998, 281 (5 383): 1 680-1 683.
- [11] SUZUKI A, ITO T, KAWANO H, et al. Survivin Initiates Procaspase-3/p21 Complex Formation as a Result of Interaction With Cdk4 to Resist Fas-mediated Cell Death [J]. Oncogene, 2000, 19 (10): 1 346-1 353.
- [12] ZHU L, LIU BL, GUO YZ. ⁹⁹Tc^m Direct Labeling of Annexin V for Potential Apoptosis Imaging in Vivo [J]. J Labelled Comp Radiopharm, 2003, 46 (Suppl 1): S324.
- [13] 张欣, 李亚明, 张延军, 等. 单次化疗后肿瘤内 ⁹⁹Tc^m-Annexin V 的分布与 bcl-2、bax 蛋白表达的相关性研究 [J]. 同位素, 2007, 20(1): 36-40.
- [14] MOCHIZUKI T, KUGE Y, ZHAO S, et al. Detection of Apoptotic Tumor Response in Vivo After a Single Dose of Chemotherapy With ⁹⁹Tc^m-Annexin V [J]. J Nucl Med, 2003, 44(1): 92-97.
- [15] OHTSUKI K, AKASHI K, AOKA Y, et al. ⁹⁹Tc^m-HYNIC-Annexin V: a Potential Radiopharmaceutical for the in-vivo Detection of Apoptosis [J]. Eur J Nucl Med, 1999, 26(10): 1 251-1 258.
- [16] KUGE Y, SATO M, ZHAO S, et al. Feasibility of ⁹⁹Tc^m-Annexin V for Repetitive Detection of Apoptotic Tumor Response to Chemotherapy: an Experimental Study Using a Rat Tumor Model [J]. J Nucl Med, 2004, 45(2): 309-313.
- [17] 刘萌, 王荣福, 张春丽, 等. ⁹⁹Tc^m-HYNIC-annexin V 荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡显像研究 [J]. 中华核医学杂志, 2005, 25(6): 357-359.
- [18] 殷蔚伯, 谷铣之, 主编. 肿瘤放射治疗学 [M]. 第 3 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2002: 425-432.