

放射性核素凋亡显像检测细胞凋亡研究进展

刘 蒙, 王明明

(安徽医科大学 核医学教研室, 安徽 合肥 230032)

摘要: 放射性核素细胞凋亡显像具有直观、无创伤和实时在体观察细胞凋亡等特点, 在脑及心肌细胞缺血再灌注损伤的观察、器官移植后排斥反应的检测、肿瘤放疗和化疗效果的评估和多巴胺能神经元早期凋亡的检测等方面具有较好的应用前景, 但仍有许多问题有待于进一步探讨。

关键词: 细胞凋亡; 放射性核素显像; 钙磷脂结合蛋白 V; 突触结合蛋白 I

中图分类号: R817 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7512(2009)02-0110-08

Recent Progress of Cell Apoptosis Imaging With Radionuclide Tracing

LIU Meng, WANG Ming-ming

(Department of Nuclear Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract: Apoptosis radionuclide imaging is a novel method for the detection of apoptosis, characterized with direct, noninvasive and real-time imaging. It is valuable in the observation of brain and myocardial ischemic reperfusion injury, detection of allograft rejection, evaluation of tumor chemotherapy and radiotherapy effect, early detection of apoptotic dopaminergic neuron, but there are many research works to be done.

Key words: apoptosis; radionuclide imaging; Annexin V; Syt I

细胞凋亡是一种由基因调控的细胞主动死亡过程, 对促进机体发育及维持机体内细胞数的平衡具有重要作用, 有助于清除无用、异常、有害的机体细胞。细胞凋亡异常可诱发多种疾病, 如正常的凋亡受到抑制, 会诱发肿瘤与自身免疫性疾病^[1], 而凋亡过度则产生获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、神经性变性疾病及移植排斥反应^[2-3]等病变。可以通过抑制或者诱导细胞凋亡来治疗相关疾病。因此检测凋亡对认识疾病, 评价和指导疾病的治疗以及开发新药等具有重要意义。

传统的细胞凋亡检测方法均为体外检测, 包括凋亡细胞形态改变显微观察。其中电镜检查凋亡小体最可靠, 但不能定量; 缺口末端原位标记(TUNEL)法具有特异、灵敏的优势, 但易受坏死细胞的干扰; 凋亡产生 DNA 断片的琼脂糖凝胶电泳、脉冲场凝胶电泳与酶联免疫吸附法(ELISA)分析法, 也具有灵敏度高的优点, 但只能半定量分析; 双苯并咪唑(Hoechst, 相对分子质量 33 342)与碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)或 FITC-AnnexinV 与 PI 双染色凋亡细胞流式

收稿日期: 2008-08-07; 修回日期: 2008-12-25

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(2006KJ3123)

作者简介: 刘蒙(1987—), 女, 江苏人, 7 年制临床医学专业学生, 从事基础核医学研究

通信作者: 王明明, 男, 放射医学博士, 副教授, E-mail: wmgene@163.com

分析,可区分坏死、凋亡细胞和活细胞,准确度高,但所需细胞量较大;免疫组化结合逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)方法检测凋亡相关蛋白(Fas、Survivin/Caspase-3、Bcl-2 与 p53)与基因表达,特异性较好,但技术复杂。此外,用荧光测定免疫吸附法(Fluorometric Immunosorbent Enzyme Assay, FIENA)与蛋白印迹法(Western Blotting)分析凋亡细胞中 Caspase-3 和聚腺苷二磷酸-核糖多聚酶(Poly Adenosine Diphosphate Ribose Polymerase, PARP)活性^[4-7],以凋亡细胞峰电流、电子转移速率及细胞内钙浓度变化检测凋亡也具有一定的优势,但这些方法均需活体取材,对人体组织器官有创伤,并且通常只能在某一时间点研究细胞凋亡,不能连续动态监测凋亡在活体内的发生与发展过程。用影像学手段在体探测细胞凋亡正好可以解决以上问题。

1 细胞凋亡的影像学检测方法

分子影像学技术的发展,为在体监测细胞凋亡的研究开创了一条全新的无创伤监测途径。目前,核素凋亡显像、磁共振技术、光与生物发光成像技术及超声成像是体检测细胞凋亡的主要影像学技术。

磁共振波谱分析(MRS):¹H-MRS 能直接对凋亡进行定量分析^[8],³¹P-MRS、¹³C-MRS^[9]也可间接探测细胞凋亡。但由于 MRS 的灵敏度相对较低,时间和空间分辨率差,因此不太适合常规临床应用。

磁共振成像(MRI):与 MRS 相比,¹H-MRI 具有较高的时间和空间分辨率以及灵敏度。检测是基于凋亡细胞形态学特征性改变可使组织弛豫时间 T_2 和 T_1 以及弥散系数(ADC)发生改变的原理,但是由于形态学改变往往发生于细胞凋亡的晚期,因此只能检测晚期凋亡细胞。

光与生物发光成像:将近红外染料 Cyanine (Cy5.5) 连接于钙磷脂结合蛋白 V (AnnexinV),用于探测细胞凋亡。其信号不需作任何处理,可直接观察,此外 Cy5.5 稳定性高,能在 10 天内反复探测,可连续实时监测细胞凋亡。这对研究运动器官(如心脏)的凋亡特别有价值。

高频超声成像技术:因细胞凋亡时细胞核发

生染色质固缩和 DNA 断裂,凋亡组织在超声图像上可表现为回声增强,使声学图像变得更亮。由于高频超声(40~50 MHz)的探测深度一般为 9 mm,而人体内各种实质器官厚度远大于此,故其不适于临床活体内细胞凋亡成像。

放射性核素凋亡显像是研究最早、也是最成熟的体内凋亡探测技术,其原理在于利用核素标记化合物与细胞凋亡过程中产生的特异性靶结合,使放射性核素浓聚在细胞凋亡部位而达到显示细胞凋亡的目的。细胞凋亡的早期,细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,激活 Ca^{2+} 依赖性非特异性脂质爬行酶(Scramblase),使 ATP 依赖性氨基磷脂特异性转位酶(Translocase)与 ATP 依赖性非特异性脂质翻转酶(Floppase)失活,磷脂酰丝氨酸残基(Phosphatidyl Serine, PS)由膜内层迁移至膜外层^[10]。核素标记的 AnnexinV 或突触结合蛋白 I (Syt I) 的 C2A 片段(FM2)可与外翻 PS 特异性结合浓集在凋亡部位而显像^[11-12]。

2 放射性核素凋亡显像剂

目前,用于核素凋亡显像的配体主要包括 AnnexinV 与 Syt I 的 C2A 片段 FM2。Annexin V 是一种人体内源性蛋白,属于 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白家族。 Ca^{2+} 存在时,Annexin V 能与 PS 特异性结合,亲和力高。Annexin V 可从胎盘提取,但其含量很低。可用 DNA 重组技术大量制备^[13]。Syt I 是神经细胞突触囊泡上的一种膜整合蛋白。C2A 是其中具有重要功能的近膜胞质片段,在静电与 Ca^{2+} 存在时,能插入带负电的膜磷脂如 PS,FM2 可通过基因工程大量制备,成本低廉。此外,抗 PS 单抗、抗 Annexin V 单抗、Caspase 酶抑制剂及酶底物、线粒体膜电位依赖性标记物(MMP-dependent Biomarker)^[14]、链亲合素^[15]也可用作配体。

目前所研究的主要凋亡显像剂列于表 1。由表 1 可知,凋亡显像所用核素包括正电子核素与单光子核素两大类。与单光子发射显像相比,正电子发射凋亡显像不仅可以提高检查的灵敏度和空间分辨率,而且可以更好地定位和定量测定凋亡,生物清除更快,但正电子核素的生产成本较高。

表 1 主要凋亡显像剂

显像剂	研究与应用	参考文献
正电子核素标记物		
¹²⁴ I-(SIB)-Annexin V	荷瘤小鼠化疗后凋亡显像	[16]
¹⁸ F-Annexin V	化疗药致肝细胞凋亡评价、缺血再灌注心肌凋亡显像	[17-18]
⁴ Cu-streptavidin	荷瘤小鼠激光治疗后凋亡显像	[15]
¹¹ C-Annexin V	体外培养细胞生物效应实验	[19]
单光子核素标记物		
¹¹¹ In-DTPA-PEG-Annexin V	荷瘤裸鼠化疗后凋亡显像	[20]
¹²⁵ I-(SIB)-Annexin V	小鼠生物分布及荷瘤小鼠化疗后凋亡显像	[16,18,21]
¹²³ I-Annexin V	标记及体外评估,小鼠与人体内分布剂量测定	[22-24]
¹²³ I-rh-Annexin V	标记及体外评估,小鼠与人体内分布剂量测定	[22-24]
⁹⁹ Tc ^m -BTAP-Annexin V	猪心室血栓凋亡显像,人体生物分布与剂量测定	[25]
⁹⁹ Tc ^m -Annexin V	亚急性性梗,心衰,非 Hodgkin'淋巴瘤与 Hodgkin's 病人生物分布与剂量测定	[26]
	化疗,心肌炎,动脉粥样硬化引发凋亡显像	[27-30]
	滤泡淋巴瘤放疗致细胞凋亡显像	[31]
⁹⁹ Tc ^m -HYNIC-Annexin V	局部脑缺血药物疗效监测、心衰致细胞凋亡显像	[32-33]
	病人剂量测定,心脏移植排斥反应监测	[34-35]
	NSCLC 顺铂化疗	[28,32-33]
⁹⁹ Tc ^m -EC-Annexin V	急性心肌梗死凋亡显像	[36-38]
	心内肿瘤与心内膜炎,头颈部肿瘤病人显像	[39-41]
	荷卵巢或乳腺肿瘤鼠自发及放疗诱发凋亡显像	[42]
⁹⁹ Tc ^m -SDH-Annexin V	激光治疗后凋亡显像	[43]
⁹⁹ Tc ^m -N ₂ S ₂ -Annexin V	人心内肿瘤及急性心脏移植排斥反应凋亡显像	[44-46]
	NSCLC 顺铂化疗,滤泡淋巴瘤放疗,AMI 病人显像	[47-49]
⁹⁹ Tc ^m -i-Annexin V	AMI,MI 与 Crohn's 病人显像	[50]
⁹⁹ Tc ^m -rh-Annexin V	小鼠放疗诱发肿瘤细胞凋亡显像	[51]
	肺癌,乳腺癌,淋巴瘤病人化疗引发凋亡显像	[44]
⁹⁹ Tc ^m -FM2	猪缺血再灌注心肌凋亡显像	[52]
⁹⁹ Tc ^m -C2A-GST	大鼠缺血再灌注心肌凋亡显像	[53]
¹³¹ I-DEVDG, ¹³¹ I-Tat	凋亡细胞结合实验(A)MI,(急性)心肌梗死;IP,缺血预处理;NSCLC,非小细胞肺癌	[54]

3 放射性核素凋亡显像的应用

3.1 肿瘤放疗和化疗效果的评估

研究表明,治疗后早期肿瘤细胞凋亡的程度反映肿瘤组织对于治疗的敏感性,并可基于细胞凋亡的程度早期评价治疗的效果、预测疾病的转归。

张欣等^[51]发现肝癌组织单次化疗后⁹⁹Tc^m-rh-Annexin V 的摄取程度与肿瘤组织内凋亡细胞的多少呈明显正相关。Kuge 等证实⁹⁹Tc^m-Annexin V 可在短期内重复使用。Yang 等^[42]发

现治疗组肿瘤组织内⁹⁹Tc^m-EC-Annexin V 摄取明显增加,且注入示踪剂 0.5、2、4 h 后肿瘤与非肿瘤组织(血液、肺、肌肉)的放射性摄取比(T/NT)逐渐增加,肿瘤组织显影逐渐清晰;而⁹⁹Tc^m-EC(未标记 Annexin V)则不然。王荣福等^[55]在荷瘤小鼠经腹腔单次给予环磷酰胺化疗后不同时间经尾静脉注射⁹⁹Tc^m-HYNIC-Annexin V,注后 1 h 进行 SPECT 显像,肿瘤放射性摄取值随化疗后时间延长而增大,化疗后 72 h 达最高(1.87±0.58)%ID/g,显像效果最

明显。

3.2 心肌细胞凋亡显像

缺血心肌再灌注损伤的机制之一是心肌细胞凋亡。在心肌梗塞区域周围的半暗区或者梗塞后的再灌注区均能观察到一些受到缺氧伤害但未达到坏死程度的心肌细胞逐渐凋亡。

Hofstra L 等^[50]以⁹⁹Tc^m-Annexin V 显像观察 7 例急性心肌梗死(AMI, Acute Myocardial Infarction)患者经皮经腔冠状动脉成形术(Per-cutaneous Transluminal Angioplasty, PTCA)后梗死部位,在注射⁹⁹Tc^m-Annexin V 后早期(平均 3.4 h)和延迟显像(平均 20.5 h)中,除 1 例电击除颤治疗患者外,其余 6 例患者均呈阳性显像,其梗死部位出现明显放射性聚集。在随后 4~6 周的常规心肌灌注显像中则显示原⁹⁹Tc^m-Annexin V 显像时的放射性浓聚部位为放射性缺损区,这提示因心肌梗死血流恢复后出现心肌细胞凋亡。证明⁹⁹Tc^m-Annexin V 心肌显像可用于评估急性心肌梗死后心肌受损危险性的大小和心肌细胞功能恢复的情况。

Thimister PWL 等^[49]在 AMI 急性期进行⁹⁹Tc^m-MIBI 心肌灌注显像的结果显示,所有 AMI 病例均见心肌梗死部位为放射性缺损区,经 PTCA 术后⁹⁹Tc^m-Annexin V 显像结果显示这些部位为放射性浓聚区。亚急性期(心梗发作 4 d 后)的心肌灌注显像显示原心梗区域缩小,由原来的 9%~43%变为 3%~25% ($P < 0.05$)。而部分患者在行⁹⁹Tc^m-Annexin V 显像时,与急性期⁹⁹Tc^m-Annexin V 显像相比,放射性摄取不断减少,甚至不摄取,即此时⁹⁹Tc^m-Annexin V 凋亡显像阴性。此后再作心肌灌注显像结果正常。这表明心肌细胞凋亡与 AMI 心肌可逆性损伤关系密切。若⁹⁹Tc^m-Annexin V 心肌细胞显像显示有心肌细胞凋亡存在,则可通过凋亡抑制治疗来防止心肌细胞死亡。

方纬等^[52]的研究表明⁹⁹Tc^m-FM2 在注射后 3h 即能与心肌凋亡组织结合,显像清晰,与流式分析和电镜检查结果能互相印证。而文献^[49-52]显示,由于 Annexin V 类显像剂相对分子质量较大,血液清除慢,早期显像不清晰,尤其心血管显像受血液本底影响大,清晰显像时间在注药后 15~20 h。故今后宜将⁹⁹Tc^m-FM2 与⁹⁹Tc^m-Annexin V 进行直接对比研究,观察⁹⁹Tc^m-FM2 显示心肌凋亡的时间是否早于⁹⁹Tc^m-Annexin V,

哪种显像剂更具实用性。

Goussev A 等^[56]在犬的心力衰竭模型中采用 TUNEL 染色可以检测到凋亡细胞,但正常心肌细胞中也有少数细胞呈阳性;应用依那普利可明显降低左心室梗死局部周边凋亡率,并改善左心室功能,减慢左心室重构。这表明心肌凋亡与左心室重构和功能不良的进行性发展有关,并可由依那普利减缓这个过程。

3.3 新生儿缺氧缺血性脑损伤(HIBD)细胞凋亡显像

新生儿 HIBD 与脑细胞不可逆的损伤(如梗死、坏死)不同,其细胞凋亡要经历一段时间发展、变化,是脑细胞迟发性死亡的重要形式。这种类型的神经死亡可能是脑瘫的预兆,而通常脑瘫症状在患儿 2~3 岁才逐渐显露,所以应用凋亡显像可以早期判断 HIBD 患儿是否可能进展为脑瘫^[57],而采取阻断凋亡级联过程的方法来治疗。

Aroeuil HD 等^[58]对新生兔 HIBD 模型凋亡显像发现,与正常兔不同,HIBD 兔脑内均出现局灶性 Annexin V 摄取,小脑摄取最多,并通过 TUNEL 染色证实凋亡细胞存在。李剑明等^[59]对幼龄兔 HIBD 模型行⁹⁹Tc^m-HYNIC-Annexin V 凋亡显像,结果显示,注药后 1 h HIBD 模型组 T/NT 大于对照 ($F = 82.385$, $P < 0.01$); HIBD 40 h 组不同时间(5、30、60、120 min) T/NT 无显著差异 ($F = 3.994$, $P > 0.01$)。与对照不同,切片观察 HIBD 4 h 组与 HIBD 40 h 组患侧脑组织均见凋亡细胞,后者较明显。HIBD 4 h 组 MRI、DWI 和表观弥散系数(ADC)图均未见异常。这证明⁹⁹Tc^m-HYNIC-Annexin V 显像能早期发现神经细胞凋亡,可用于新生儿 HIBD 细胞凋亡的无创性诊断、抑制凋亡疗效评价与预后估计。

3.4 检测早期凋亡多巴胺能神经元

帕金森病(PD)是一种以中脑黑质多巴胺能神经元缺失和 Lewy 小体形成为病理特征的神经退行性疾病,多巴胺能神经元凋亡可能是致病因素。

黄金莎等^[60]研究发现,⁹⁹Tc^m-Annexin V 在体外特异性地与凋亡多巴胺能神经元相结合,且凋亡细胞放射性测量结果与流式细胞仪检测到的凋亡率呈显著正相关。这提示⁹⁹Tc^m-Annexin V 可用于多巴胺能神经元的凋亡显像。但仍需

进行动物整体研究,以判断⁹⁹Tc^m-Annexin V 显像能否用于早期 PD 诊断。

3.5 异体心、肝、肺的移植排斥反应导致的细胞凋亡

器官移植产生的急性排斥现象主要是因活化的 T 淋巴细胞诱导移植器官的细胞凋亡所致。Annexin V 显像能在移植手术后 2 h 内快速提供移植排斥与否的数据^[61],可用于观察心脏排斥反应的发生及严重程度,也可观察抗排斥药的治疗效果,评估心肺^[62]移植手术后急性排斥反应的严重程度。

3.6 ⁹⁹Tc^m-FM2 无创性检测易损动脉粥样硬化斑块的实验研究

血管内皮平滑肌细胞和巨噬细胞凋亡异常活跃是造成动脉粥样硬化斑块不稳定,引发心肌梗死、猝死等严重临床后果的重要原因。方纬等^[63]研究证实,⁹⁹Tc^m-FM2 能够与腹主动脉易损动脉粥样硬化斑块特异性结合并清晰显像,而胸主动脉稳定斑块和正常腹主动脉摄取很少。⁹⁹Tc^m-FM2 显像有望成为无创性检测动脉易损粥样硬化斑块的有效方法。

3.7 其他

一些药物、再生障碍性贫血及放化疗^[42,29]均可诱发骨髓细胞凋亡,类风湿性关节炎^[6]、硬皮病、心肌炎^[64]、多肌炎、皮炎及甲状腺炎^[65]等疾病所致的细胞凋亡等,均可用 Annexin V 评估。

4 存在问题及对策

与其他细胞凋亡检测方法相比,放射性核素显像是一种无创伤、早期检测体内细胞凋亡的方法,简便、直观,可以为临床诊断和指导治疗各种疾病提供有力的依据。但放射性核素显像作为一种较新的细胞凋亡观察方法仍有许多方面需要改进:(1)不同类型组织细胞的细胞凋亡显像结果判断的定性和定量标准仍有待进一步确定;(2)细胞凋亡显像的最佳显像条件,包括显像清晰所需的最低凋亡细胞数量、显像时间、投予剂量、显像与治疗的时间间隔及显像采集方式等有待于摸索;(3)现有的 Annexin V 类显像剂相对分子质量较大,血液清除较慢,早期显像效果不佳,且生产成本高,价格昂贵;⁹⁹Tc^m-FM2 需谷胱甘肽转移酶提供标记位点,标记方法复杂,因此有必要研制经济实用且标记简便的细胞凋亡显

像试剂盒;(4)对具有潜在临床应用前景的细胞凋亡分子探针深入进行生物学性能研究,提高 T/NT。

根据现有的研究结果,并且随着上述问题的逐步解决,放射性核素显像检测细胞凋亡将有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 彭黎明,王曾礼. 细胞凋亡的基础与临床[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:245-287,298-341.
- [2] Blankenberg FG, Robbins RC, Stoct JH, et al. Radionuclide imaging of acute lung transplant rejection with Annexin V [J]. Chest, 2000, 117 (3): 834-840.
- [3] Vriens PW, Blankenberg FG, Stoct JH, et al. The use of technetium Tc-99m Annexin V for in vivo imaging of apoptosis during cardiac allograft rejection[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1998, 116(5):844-853.
- [4] 彭黎明,王曾礼. 细胞凋亡的基础与临床[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:153-208.
- [5] 吕莹,张德禄,张宏,等. 细胞凋亡检测方法研究进展[J]. 西北师范大学学报:自然科学版,2007,43 (2):82-87.
- [6] 刘学东,郑东,关伟军,等. 细胞凋亡检测方法研究[J]. 上海畜牧兽医通讯,2007,2:52-54.
- [7] Shun Chen, An-chun Cheng, Ming-shu Wang, et al. Detection of apoptosis induced by new type gosling viral enteritis virus in vitro through fluorescein Annexin V-FITC/PI double labeling[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14 (14): 2 174-2 178.
- [8] Blankenberg FG, Katsikis PD, Storrs RW, et al. Quantitative analysis of apoptotic cell death using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Blood, 1997, 89: 3 778-3 786.
- [9] Locke S, Brauer M. Response of the rat liver in situ to bromobenzene: in vivo proton MRI and 31P-MRS studies[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1991, 110 (3): 416-428.
- [10] Zwaal RFA, Schroit AJ. Pathophysiologic Implications of Membrane Phospholipid Asymmetry in Blood Cell [J]. Blood, 1997, 89 (4): 1 121-1 132.
- [11] Blankenberg FG, Katsik PD, Tait JF, et al. In vivo detection and imaging of phosphatidylserine expression during programmed cell death [J]. Proc

- Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 6 349- 6 354.
- [12] Blankenberg FG, Katsikis PD, Tait JF, et al. Imaging of apoptosis (programmed cell death) with $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ - Annexin V [J]. J Nucl Med, 1999, 40: 184-191.
- [13] 陈大明, 谢虹, 祁本忠, 等. 细胞凋亡检测蛋白 Annexin V 的制备纯化和初步评价[J]. 原子能科学技术, 2004, 38: 182-187.
- [14] Christophe MM, Lahorte JLV, Neil S. Apoptosis-detecting radioligands: current state of the art and future perspectives[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31(6): 88-919.
- [15] Cauchon N, Langlois R, Rousseau JA. PET imaging of apoptosis with ^{64}Cu -labeled streptavidin following pretargeting of phosphatidylserine with biotinylated annexin V [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2007, 34 (2): 247-258.
- [16] Collingridge DR, Glaser M, Osman S. In vitro selectivity, in vivo biodistribution and tumour uptake of annexin V radiolabelled with a positron emitting radioisotope [J]. British Journal of Cancer, 2003, 89: 1 327-1 333.
- [17] Yagle KJ, Eary JF, Tait JF, et al. Evaluation of ^{18}F -Annexin V as a PET imaging agent in an animal model of apoptosis [J]. J Nucl Med, 2005, 46 (4): 658-666.
- [18] Murakami Y, Takamatsu H, Taki J, et al. ^{18}F -labelled annexin V : a PET tracer for apoptosis imaging [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31 (4): 469-474.
- [19] Ito M, Tomiyosh K, Takahashi N, et al. Development of a new ligand, ^{11}C -Annexin V for PET imaging of apoptosis [J]. J Nucl Med, 2002, 43 (suppl 5): 362.
- [20] Li C, Wen X, Wu Q, et al. Apoptosis induced by drug treatments correlates with uptake of ^{111}In -labeled PEGylated Annexin V in MDA-MB468 tumors [J]. J Nucl Med, 2002, 43(5): 41-42.
- [21] 靳彩玲, 许玉杰, 范我, 等. Annexin V 的 ^{125}I 标记及在正常小鼠内的分布 [J]. 同位素, 2005, 18(4): 621-624.
- [22] Lahorte C, Slegers G, Philippé J, et al. Synthesis and in vitro evaluation of ^{123}I -labelled human recombinant Annexin V [J]. Biomol Eng, 2001, 17 (2): 51-53.
- [23] Lahorte C, van de Wiele C, Bacher K, et al. Biodistribution and dosimetry study of ^{123}I -rh-Annexin V in mice and humans [J]. Nucl Med Commun, 2003, 24(8): 871-880.
- [24] Russell J, O' Donoghue JA, Finn R, et al. Iodination of Annexin V for imaging apoptosis [J]. J Nucl Med, 2002, 43(5): 671-677.
- [25] Stratton JR, Dewhurst TA, Kasina S, et al. Selective uptake of radiolabeled Annexin V on acute porcine left atrial thrombi [J]. Circulation, 1995, 92: 3 113-3 121.
- [26] Kemerink GJ, Boersma HH, Thimister PWL, et al. Biodistribution and dosimetry of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BTAP-annexin-V in humans [J]. Eur J Nucl Med, 2001, 28: 1 373-1 378.
- [27] 张迎强, 蔡炯, 李方, 等. 荷肉瘤小鼠肿瘤细胞凋亡显像实验研究 [J]. 医学研究杂志, 2007, 36(2): 30-33.
- [28] Johnson LL, Schofield L, Donahay T, et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Annexin V imaging for in vivo detection of atherosclerotic lesions in porcine coronary arteries [J]. J Nucl Med, 2005, 46(7): 1 186-1 193.
- [29] Blankenberg FG, Naumovshi L, Tait JF, et al. Imaging cyclophosphamide-induced intramedullary apoptosis in rats using $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -radiolabeled annexin V [J]. J Nucl Med, 2001, 42(2): 309-316.
- [30] Vannier MW. Imaging apoptosis in rheumatoid arthritis [J]. J Nucl Med, 2002, 43: 1 366-1 367.
- [31] Haas RLM, Valdés-Olmos RA, de Jong D, et al. Radiation induced apoptosis in follicular lymphoma patients assessed by $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Annexin V scintigraphy [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2003, 30(Suppl 2): S197.
- [32] Tang XN, Wang Q, Koike MA, et al. Monitoring the protective effects of minocycline treatment with radio-labeled Annexin V in an experimental model of focal cerebral ischemia [J]. J Nucl Med, 2007, 48(11): 1 822-1 828.
- [33] Kietselaer BL, Reutelingsperger CP, Boersma HH, et al. Noninvasive detection of programmed cell loss with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled annexin A5 in heart failure [J]. J Nucl Med, 2007, 48(4): 562-567.
- [34] Kim EE, Yang DJ, Azhdarinia A, et al. Assessment of tumor growth using angiogenic and apoptotic agents [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2003, 30(Suppl 2): S316.
- [35] Kemerink GJ, Liem IH, Hofstra L, et al. Patient dosimetry of intravenously administered $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Annexin [J]. J Nucl Med, 2001, 42: 382-387.
- [36] Steinmetz N, Taillefer R, Hendel RC, et al. Simultaneous dual isotope $^{201}\text{Tl}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Annexin (apo-

- mateTM) SPECT in detection of acute myocardial infarction; initial results of a phase II multicenter trial [J]. *J Nucl Med*, 2002, 43(5): 4.
- [37] Taillefer R, Phaneuf DC, Duong DH, et al. ^{99m}Tc-Annexin V scintigraphy in detection of acute myocardial infarction(MI); repeat imaging after the onset of acute symptoms in order to evaluate the persistence of abnormal radiotracer uptake [J]. *J Nucl Med*, 2002, 43(5): 5.
- [38] Thimister PWL, Pakbiers M, Janssen D, et al. Disappearance of apoptosis in the sub acute phase of acute myocardial infarction[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002, 29(Suppl 1): S49.
- [39] Kietselaer BL, Boersma HH, Heidendal GA, et al. The use of ^{99m}Tc labeled annexin-A5 imaging in the diagnostic work-up of intracardiac masses [J]. *J Nucl Med*, 2003, 44(5): 156.
- [40] Van de Wiele C, Lahorte C, Vermeersch H, et al. Quantitative tumour apoptosis imaging using ^{99m}Tc-HYNIC -Annexin single photon emission computerized tomography[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21: 3 483-3 487.
- [41] Vermeersch H, Loose D, Lahorte C, et al. ^{99m}Tc-HYNIC-Annexin V imaging of primary head and neck carcinoma [J]. *Nucl Med Commun*, 2004, 25: 259-263.
- [42] Yang DJ, Azhdarinia A, Wu P, et al. In vivo and in vitro measurement of apoptosis in breast cancer cells using ^{99m}Tc-Annexin V [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2001, 16(1): 73-83.
- [43] Subbarayan M, Hafeli U, Mukhtar H. Cellular imaging of apoptosis induced by photodynamic therapy (PDT) using Tc-99m-Annexin V made by a novel method[J]. *Mol Imaging Biol*, 2002, 4(4 Suppl 1): S41.
- [44] Hofstra L, Dumont EA, Thimister PWL, et al. In vivo detection of apoptosis in an intracardiac tumor[J]. *J Am Med Assoc*, 2001, 285, 1 841-1 842.
- [45] Kown MH, Strauss HW, Blankenberg FG, et al. In vivo imaging of acute cardiac allograft rejection in human patients using ^{99m}technetium labeled Annexin V [J]. *Am J Transplant*, 2001, 1: 270-277.
- [46] Narula J, Acio ER, Narula N, et al. Annexin-V imaging for noninvasive detection of cardiac allograft rejection[J]. *Nat Med*, 2001, 7: 1 347-1 351.
- [47] van den Heuvel IJ, Pool B, Valdés-Olmos R, et al. Labelling and imaging aspects of ^{99m}Tc-rh-Annexin V in tumour-apoptosis detection[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003, 30 (Suppl 2): S167.
- [48] Haas RLM, Valdés-Olmos RA, De Jong D, et al. Radiation induced apoptosis in follicular lymphoma patients assessed by ^{99m}Tc-Annexin V scintigraphy [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003, 30(Suppl 2): S197.
- [49] Thmister PWL, Hofstral L, Liem IH, et al. In vivo detection of cell death in the area at risk in acute myocardial infarction[J]. *J Nucl Med*, 2003, 44(3): 391-396.
- [50] Hofstral L, Liem IH, Dumont EA, et al. Visualisation of cell death in vivo in patients with acute myocardial infarction[J]. *Lancet*, 2000, 356(15): 209-212.
- [51] 张欣,李亚明,张延军,等.^{99m}Tc-rh-Annexin V 检测单次化疗后肿瘤细胞凋亡的实验研究[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2007, 18(3): 183-188.
- [52] 方纬,王峰,季顺东,等.^{99m}Tc-FM2 心肌细胞凋亡显像的实验研究[J]. *中华核医学杂志*, 2006, 26(3): 137-140.
- [53] Zhao M, Zhu X, Ji S, et al. ^{99m}Tc-labeled C2A domain of synaptotagmin I as a target-specific molecular probe for noninvasive imaging of acute myocardial infarction[J]. *J Nucl Med*, 2006, 47(8): 1 367-1 374.
- [54] Bauer C, Bauder-wuest U, Mier W, et al. ¹³¹I-labeled peptides as caspase substrates for apoptosis imaging[J]. *Nucl Med*, 2005, 46(6): 906-908.
- [55] 王荣福,刘萌,张春丽,等. 单次化疗后荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡显像研究[J]. *中国医学影像技术*, 2005, 21(11): 1 667-1 670.
- [56] Goussev A, Sharov VG, Shimoyama H, et al. Effects of ACE inhibition on cardiomyocyte apoptosis in dogs with heart failure[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275: 626-631.
- [57] Chen Y, Deshmukh M, D'Costa A, et al. Caspase inhibitor affords neuroprotection with delayed administration in a rat model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101: 1 992-1 999.
- [58] Aroeuil HD, Rhine W, deCrespigny A, et al. ^{99m}Tc^m-Annexin V imaging of neonatal hypoxic brain injury[J]. *Stroke*, 2000, 31(11): 2 692-2 698.
- [59] 李剑明,李亚明,张志勇,等. 幼龄兔缺氧缺血性脑

- 损伤的细胞凋亡显像研究[J]. 中华核医学杂志, 2007, 27(3):177-179.
- [60] 黄金莎, 曹卫, 孙圣刚, 等. ^{99m}Tc -Annexin V 检测早期凋亡多巴胺能神经元的实验研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2007, 14(4):211-215.
- [61] Strauss HW, Kown M, Hunt S, et al. Blood Clearance of $^{99}\text{Tc}^m\text{-N}_2\text{S}_2\text{-Annexin V}$ in Human Subjects[J]. J Nucl Med, 2000, 41: 149.
- [62] Blankenberg FG, Strauss HW. Non-invasive diagnosis of acute heart-or lung-transplant rejection using radiolabeled annexin V [J]. Pediatr Radiol, 1999, 29: 299-305.
- [63] 方纬, 季顺东, 王峰, 等. ^{99m}Tc 标记突触结合蛋白 I-C2A 片段无创性检测易损动脉粥样硬化斑块的实验研究[J]. 中华心血管杂志, 2007, 35(2): 178-181.
- [64] Tokita N, Hasegawa S, Maruyama K, et al. $^{99}\text{Tc}^m\text{-Hynic-Annexin V}$ imaging to evaluate inflammation and apoptosis in rats with autoimmune myocarditis[J]. Eur J Nucl Med, 2003, 30: 232-238.
- [65] Li S, Beheshti M. The Radionuclide Molecular Imaging and Therapy of Neuroendocrine Tumors [J]. Current Cancer Drug Targets, 2005, 5(2): 139-148.