

·综述·

放射性核素显像探针在细胞凋亡中的研究进展

张凯秀 王雪梅 赵建民

010050 呼和浩特, 内蒙古医科大学附属医院核医学科(张凯秀、王雪梅), 骨科(赵建民)

通信作者: 赵建民, Email: nmzjmin@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2018.06.015

【摘要】 目前细胞凋亡的体外检测方法很多, 但这些检测方法在取材、组织活检时具有创伤性, 大多需要处死动物, 且只能离体研究, 限制了其在临床中的应用与转化。体内检测方法因可在活体内无创、实时监测凋亡, 成为目前研究的热点。放射性核素凋亡细胞显像技术因具备无创、早期、动态、灵敏、定量、可在活体内检测等优势, 具有良好的研究前景, 是目前研究最为广泛、技术最为成熟的体内细胞凋亡检测技术。核素凋亡显像已广泛应用于心血管疾病、中枢神经系统疾病、器官移植排斥反应中的细胞凋亡检测, 以及恶性肿瘤放化疗的疗效评价和预后判断等方面。笔者主要通过对放射性核素显像探针在细胞凋亡中的研究进展作一综述。

【关键词】 分子显像; 放射性同位素; 分子探针; 细胞凋亡

基金项目: 国家自然科学基金(81360224)

Research progress of radionuclide imaging probes in apoptosis Zhang Kaixiu, Wang Xuemei, Zhao Jianmin

Department of Nuclear Medicine, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China(Zhang KX, Wang XM); Department of Orthopedics, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China(Zhao JM)

Corresponding author: Zhao Jianmin, Email: nmzjmin@163.com

【Abstract】 At present, there are many methods for detecting apoptosis in vitro, but these methods just are traumatic in material extraction and tissue biopsy by sacrificing of animals in vitro, which limits their clinical application and transformation. In vivo detection methods have become the focus of current research because of non-invasive and real-time monitoring of apoptosis in vivo. Radionuclide apoptotic cell imaging technology among has good research prospects in non-invasive, early stage, dynamic, sensitive, quantitative, and detection intravital. It is the most widely studied and mature technology for detecting apoptosis intravital. Radionuclide apoptosis imaging has been widely used in the detection of apoptosis in cardiovascular diseases, central nervous system diseases, organ transplant rejection, and the evaluation of efficacy and prognosis of malignant tumor after radiotherapy and chemotherapy. This article reviews the progress of radionuclide imaging probes in apoptosis.

【Key words】 Molecular imaging; Radioisotopes; Molecular probes; Apoptosis

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81360224)

细胞凋亡是细胞衰老与死亡的主要形式之一, 在机体中承担着重要的调控作用。许多疾病和病变与异常的细胞凋亡有关, 凋亡过度会诱发获得性免疫缺陷综合征、神经性变性疾病及移植排斥反应等^[1-2]。因此, 定量检测细胞凋亡及其变化对认识疾病、评价指导疾病的治疗和开发新药等具有重要意义。细胞凋亡检测的实验室技术层出不穷, 但

由于这些技术较复杂且存在一些不足, 因此尚难成为对临床疾病进行辅助诊断、指导治疗、疗效监测和预后判断的有效检测手段^[3-4]。目前, 科研人员普遍认为, 放射性核素显像、MRI 和光学成像等分子显像技术有助于解决这一难题^[5-7]。一旦细胞凋亡程序启动后, 自身凋亡细胞会发生一系列的病理生理改变, 产生多种可识别的、特异性的化学信

号(即作用靶点),用放射性核素、荧光染料等显像剂标记靶向分子后,进而与凋亡细胞中的特异性作用靶点结合,可达到体内检测的目的。在上述分子影像技术中,放射性核素细胞凋亡显像具备无创、早期发现、定量以及灵敏度高等特点,是目前较为成熟的体内检测方法。细胞凋亡分子显像技术的关键是选择合适的靶点和高度特异性的分子探针。根据不同靶点,目前用于细胞凋亡显像的分子探针主要分为4大类:磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine,PS)、磷脂酰乙醇胺、半胱天冬氨酸蛋白酶3(Caspase-3)、线粒体膜去极化。本文从这4方面逐一阐述。

1 以PS为靶点的显像剂

1.1 基于Annexin V(膜联蛋白V)的核素凋亡显像

正常细胞的PS位于细胞膜内侧,当细胞凋亡发生时,PS翻转至膜外侧,暴露在细胞外环境中,成为清除吞噬细胞的信号。在凋亡刺激因素作用的最初数小时内,PS即可暴露于细胞表面,且PS含量丰富,每个凋亡细胞有超过百万个结合位点,因此受到广泛的关注,也是目前研究最多的显像结合靶点^[9]。针对PS最常用的分子探针是Annexin V(Annexin A5),Annexin是一种无糖链的膜蛋白(相对分子质量约36 000),与PS有较强的结合能力,解离常数达到毫微摩尔级,一般通过DNA重组技术产生,且在体内无毒性。经过不断改进,Annexin V的放射性核素标记技术有了很大提高^[10],目前已经发现第二代位点特异性突变的Annexin V,但其药代动力学和组织特异性方面的缺陷限制了其进一步应用^[11]。

1.1.1 SPECT凋亡显像

放射性核素标记的Annexin包括两大类:单光子核素与正电子核素,常见的单光子核素有^{99m}Tc、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I和¹¹¹In,常见的正电子核素有¹⁸F、¹¹C、⁶⁴Cu。目前研究应用最为广泛的核素显像剂是^{99m}Tc-Annexin V,其标记方法可分为直接标记法和经双功能螯合剂标记法,在国外已经成功地被应用于SPECT活体检测。^{99m}Tc-Annexin V中应用于SPECT的主要探针包括:^{99m}Tc-联脒尼克酰胺-膜联蛋白V、^{99m}Tc-乙二胺半胱氨酸-膜联蛋白V、^{99m}Tc-4,5-2(硫代乙酰胺)戊酰-膜联蛋白V、¹¹¹In-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四羧酸-膜联

蛋白V^[12]和¹²³I-Annexin V^[13],均已进入动物实验和初步临床应用。在Annexin V标记的多种探针中,^{99m}Tc-联脒尼克酰胺-膜联蛋白V是目前临床应用最为广泛的探针,相关研究结果显示,该探针在注射后30 min和24 h时肾脏摄取最高^[14],注射后4~6 h便可显像。相较于^{99m}Tc-Annexin V,¹²³I-Annexin V的优点是腹部显像良好,缺点是标记繁琐、价格昂贵^[15]。相关研究发现^{99m}Tc-4,5-2(硫代乙酰胺)戊酰-膜联蛋白V的摄取量与肺癌和淋巴瘤患者的生存期以及临床痊愈密切相关^[16],但因其准备过程耗时复杂、血液清除率低、肠道摄取高等诸多缺点,影响了其在临床的广泛应用^[17]。研究表明:^{99m}Tc-Annexin V显像能够显示心肌、血管、肿瘤、炎症等组织的凋亡细胞,在急性心肌梗塞、心肌炎、心脏移植排异反应、不稳定动脉粥样硬化斑块、肿瘤化疗等方面有一定的应用价值^[18-21]。国外对^{99m}Tc-Annexin V用于观察抗心肌凋亡效应^[22-23]和心衰患者进行了初步的临床研究^[24]。

1.1.2 PET凋亡显像

PET具有很高的空间分辨率和灵敏度,相较于单光子核素显像,更易行定量研究和定位诊断,其生物清除更快,但生产成本更高。Hu等^[25]采用¹⁸F-Annexin V PET检测荷瘤鼠在多柔比星化疗后的不同时间点(6 h、24 h、3 d、7 d)肿瘤细胞的凋亡情况,结果发现肿瘤细胞在化疗后第3天达到摄取¹⁸F-Annexin V的最高峰,第7天回归至基线水平,整个过程可以十分清楚地显示化疗后诱导细胞凋亡的变化情况。¹⁸F-Annexin V PET凋亡显像在检测放、化疗后肿瘤细胞凋亡的动物实验中已有广泛的研究^[26-27],并且在中枢神经系统和心血管系统等领域已进入前期临床研究阶段,但¹⁸F-Annexin V标记耗时长、过程相对复杂,在常规临床检查中并不适用。Liu等^[28]应用¹¹¹In-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四羧酸-膜联蛋白V PET凋亡显像及时有效地评估了早期胃癌化疗耐药的反应,取得了非常好的评价效果。

1.2 基于Annexin B1的核素凋亡显像

Annexin B1,曾命名为Annexin 32,由张毅等^[29]率先克隆成功,是Annexin家族的一个新成员,具有较强的钙依赖性磷脂结合活性,对翻转至凋亡细胞表面的PS具有很高的亲和力,可用于凋亡细胞检测。郑宇佳等^[30]研究N-琥珀酰亚胺-4-氟苯甲酸

酯偶联的氟-18-膜联蛋白 B1 显像剂早期评价化疗诱导细胞凋亡的可行性,发现 N-琥珀酰亚胺-4-氟苯甲酸酯偶联的氟-18-膜联蛋白 B1 不仅能早期反映化疗诱导的细胞凋亡,还有望用于活体细胞凋亡的分子显像和早期疗效判断。赵庆等^[31]通过构建 anti-Fas 单克隆抗体诱导 Jurkat 细胞凋亡模型和右肾缺血再灌注凋亡兔模型,分别在体外和体内研究氟 18-膜联蛋白 B1 (¹⁸F-N-succinimidyl-4-fluorobenzoate-Annexin B1, ¹⁸F-SFB-Annexin B1) 检测细胞凋亡的能力,结果发现采用 ¹⁸F 间接标记法制备的 ¹⁸F-SFB-Annexin B1 具有很高的放射化学纯度,且具有与 PS 结合的生物活性,在检测体内细胞凋亡方面具有潜力和可行性。Wang 等^[32]进一步优化了 ¹⁸F-SFB-Annexin B1 的自动化合成, PET/CT 凋亡动态显像显示其在注射后 2 h 主要积聚在肾和膀胱,且主要通过泌尿系统快速排除,注射后 2 h 显像最佳,注射后 4 h 仍能显示肿瘤细胞凋亡区域,结果显示 ¹⁸F-SFB-Annexin B1 PET/CT 能有效地检测到肿瘤化疗后诱导的凋亡,有望被广泛应用于疾病的诊断与疗效检测。

1.3 基于 C2A 片段靶向 PS 的核素凋亡显像

突触结合蛋白 I-C2A 片段(Syt I-C2A)也是一种针对 PS 的分子探针, 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, Syt I 的 C2A 片段在静电和 Ca²⁺存在的条件下,与凋亡细胞外翻带负电的 PS 特异性结合,聚集在凋亡细胞而显像。Zhao 等^[33]将 SytI-C2A 与 MR 增强剂结合,应用 MRI 检测肿瘤凋亡细胞获得成功,引起广泛关注。相关研究先后合成了突触结合蛋白 I-C2A 片段-谷胱甘肽转移酶复合物(⁹⁹Tc^m 标记突触结合蛋白 I-C2A 片段 ⁹⁹Tc^m-SytI-C2A-GST, 谷胱甘肽转移酶复合物 ⁹⁹Tc^m-FM2)和突触结合蛋白 I-C2A 异构体(⁹⁹Tc^m 标记突触结合蛋白 I-C2A 片段突变体 ⁹⁹Tc^m-SytI-C2AG4C), 并成功进行了心肌缺血再灌注损伤^[34]、易损动脉粥样硬化斑块和恶性肿瘤化疗^[35]等动物模型的显像研究。由于 SytI-C2A 的相对分子质量较小(36 000), 仅为 Annexin V 的 1/3, 因此, 在早期显像方面具有一定的优势。

综上所述, Annexin V 显像剂在凋亡显像中扮演着十分重要的角色, 但因其分子质量大、血液清除慢、肾脏摄取高等缺点限制了它在临床上的发

展。因此, 今后研究的重点方向是进一步改进 Annexin V 的分子结构, 并进行更多的临床研究。

2 以磷脂酰乙醇胺为靶点的显像剂

相关研究报道了 ⁹⁹Tc^m 标记的新型小分子多肽——Duramycin 作为放射性核素细胞凋亡显像剂, 选用的分子探针为 Duramycin。Duramycin 是一种仅由 19 个氨基酸残基构成的多肽, 相对分子质量仅为 2000, 为紧密的环状结构, 主要针对的靶点为磷脂酰乙醇胺(PtdE)^[36]。磷脂酰乙醇胺(PtdE)在细胞膜磷脂中约占 20%, 其含量明显高于 PS。磷脂酰乙醇胺 PtdE 与 PS 相似, 磷脂酰乙醇胺(PtdE)在正常细胞中位于脂质双分子层的内侧, 极少暴露于细胞表面。细胞发生凋亡时, 磷脂酰乙醇胺(PtdE)可穿越脂质双分子层, 大量分布于细胞膜外侧^[37-38], 可用来检测早期细胞凋亡。在细胞凋亡的发生和发展过程中, 胞膜的发泡现象和凋亡小体形成是最具特征的形态学变化, 磷脂酰乙醇胺(PtdE)的跨膜分布在胞膜发泡过程中明显增强, 并且对上述形态学变化过程具有调节作用^[39]。因此, 磷脂酰乙醇胺(PtdE)也是最重要的细胞凋亡靶点之一。

Duramycin 可与磷脂酰乙醇胺(PtdE)的头部基团特异结合, 两者结合的摩尔比为 1:1。Duramycin 与磷脂酰乙醇胺(PtdE)结合的部位为疏水的口袋结构, 包含亲脂的侧链, 其中的天冬氨酸的羧基与磷脂酰乙醇胺(PtdE)头部的氨基发生离子相互作用而紧密结合。此外, 另有两个苯丙氨酸侧链锚定脂质双分子层的疏水核心, 使两者结合更加稳定, Duramycin 的解离常数可以达到毫微摩尔级^[36]。同时, 由于磷脂酰乙醇胺(PtdE)在细胞膜磷脂中的含量明显高于 PS, 所以 Duramycin 与凋亡细胞的结合位点比 Annexin V 更丰富。因此 Duramycin 应该是一种更为理想的小分子、特异性、结合能力强的分子探针。有研究者已经应用 ⁹⁹Tc^m-Duramycin 进行了心肌细胞凋亡检测的初步试验研究^[40-41], 结果显示该分子探针能够准确地检测凋亡组织。Zhang 等^[42]用 ⁹⁹Tc^m 标记的 Duramycin 进行脑缺血再灌注损伤大鼠模型的 SPECT 显像研究, 他们发现缺血损伤侧脑半球的放射性核素摄取量明显高于健侧脑半球, 同时放射性自显影结果显示: 放射性核素浓度与离体测定的 Caspase-3 免疫组化

染色结果呈正相关,表明 $^{99}\text{Tc}^m$ -Duramycin 还能用以检测缺血再灌注损伤引起的神经细胞凋亡。

3 以 Caspase 为靶点的显像剂

介导细胞凋亡的 Caspase 家族蛋白酶的分子探针中的 Caspase-3 是关键性的执行分子,在凋亡信号传导的许多途径中发挥作用^[43]。Caspase-3 以酶原(相对分子质量 32 000)的形式存在于胞浆中,在凋亡的早期阶段被激活。活化的 Caspase-3 由两个大亚基(相对分子质量 17 000)和两个小亚基(相对分子质量 12 000)组成,裂解相应的胞浆胞核底物,Caspase-3 最主要的底物是多聚(二磷酸腺苷-核糖)聚合酶聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(polyadenosine diphosphate-ribose polymerase, PARP),该酶与 DNA 修复、基因完整性监测有关。细胞凋亡启动时,相对分子质量 116 000 的 PARP 被 Caspase-3 剪切成相对分子质量 31 000 和相对分子质量 85 000 两个片段,使 PARP 中与 DNA 结合的两个锌指结构与羧基端的催化区域分离,不能发挥正常功能,结果使受 PARP 负调控影响的 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 依赖性核酸内切酶的活性增高,裂解核小体间的 DNA,引起细胞凋亡。Zhou 等^[44]合成了针对 Caspase-3 激活的分子探针 ^{18}F -WC-II-89(一种 ^{18}F 标记的非肽基靛红磺酰胺类似物),发现 ^{18}F -WC-II-89 能够浓聚于环乙酰亚胺诱导的肝脾细胞的凋亡组织中。葛青山^[45]研究发现,当 AuNP/peptide-TPdye 双光子纳米复合探针与 Caspase-3 反应时,Caspase-3 可以特异性地从天冬氨酸-谷氨酸-缬氨酸-天冬氨酸处将 peptide 从天冬氨酸与赖氨酸之间剪断,从而使 EBVC(一种细胞凋亡显像剂)分子远离 AuNPs 表面,荧光能量共振转移效应被破坏,荧光恢复,该体系实现了对凋亡活细胞和组织的双光子荧光成像。对荷瘤鼠化疗后 PET 显像的研究结果发现,肿瘤放射性核素摄取量与 Caspase-3 活性明显相关,放射性自显影结果显示核素摄取量与体外 Caspase-3 免疫组化染色结果明显相关^[46]。

4 检测线粒体跨膜电位变化的显像剂

跨膜电位对维持线粒体的正常功能至关重要,正常细胞线粒体跨膜电位为内负外正,能够高度摄取某些亲脂阳离子物质。细胞发生凋亡时,由于线粒体膜通透性增加,跨膜电位降低,因此摄取亲脂

阳离子物质的能力明显降低。Madar 等^[47]利用 ^{18}F 标记氟苯甲基三苯基磷阳离子化合物检测线粒体跨膜电位的变化,跨膜电位降低时, ^{18}F 标记氟苯甲基三苯基磷阳离子化合物摄取明显减少。Higuchi 等^[48]发现 ^{18}F 标记氟苯甲基三苯基磷阳离子化合物在注射 45 min 后就能产生稳定的信号,并且可以较好地显示短暂冠状动脉闭塞后花斑型心肌缺血小鼠模型的病变区域,其显像结果与病理结果一致。虽然该类显像剂在心脏、肾脏等线粒体密度较高的器官显像效果好,但其也有自身的缺点:①某些导致线粒体膜电位变化的原因会使核素摄取减少;②某些活体细胞可利用多耐药蛋白将探针排出体外,凋亡信号下降可能会误诊为凋亡细胞;③其信号会随膜去极化的摄取速率减少而降低。

5 其他凋亡显像剂

2-(5-氟戊基)-2-甲基丙二酸(2-(5-fluoropentyl)-2-MethylMalonic acid, ML-10)是一种基于 Aposense 家族小分子化合物的 PET 凋亡显像剂,其中研究最多的是 ^{18}F -ML-10,它是第一个被应用于临床阶段的显像剂,其在 I 期临床试验中表现出良好的安全性、稳定性及生物学分布^[6]。王腾腾等^[49]研究发现 ^{18}F -ML-10 被凋亡细胞选择性地摄取,而坏死细胞基本不摄取,这与线粒体跨膜电位破坏、Caspases 激活、DNA 水解等凋亡印记有关。一项 II 期临床试验显示,应用 ^{18}F -ML-10 可评估恶性肿瘤脑转移行全脑放疗后的效果,且该效果与 2 个月后 MRI 检查提示的解剖学变化存在相关性^[50]。

6 结语

虽然多项实验发现上述所有分子探针在检测细胞凋亡方面具有有效性,但除了 $^{99}\text{Tc}^m$ -Annexin V 已初步应用于临床之外,其他分子探针仍然处于初步的基础研究阶段,还存在不足。Annexin V 相对分子质量较大,血液清除慢,早期成像图像质量还不理想,其在正电子核素的标记方面还存在较多困难,因此,仅有少量 PET 显像动物实验的研究。针对线粒体跨膜电位变化和针对 Caspase-3 的两类显像剂目前也尚不成熟,活体显像实验的报道很少。前者仅适用于心肌、肾等富含线粒体的组织,对于其他线粒体代谢活性较低的组织器官效果欠佳。因此,研制新的小分子、特异性更强的凋亡细

胞分子探针仍然是该领域研究的重要方向。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 张凯秀负责论文撰写;王雪梅、赵建民负责方法建立、论文审阅。

参 考 文 献

- [1] Wang F, Wei ZL, Sun XR, et al. Apoptosis Inducing Factor Is Involved in Stretch-Induced Apoptosis of Myoblast via a Caspase-9 Independent Pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(4): 829–838. DOI: 10.1002/jcb.25759.
- [2] Blankenberg FG, Robbins RC, Stoot JH, et al. Radionuclide imaging of acute lung transplant rejection with annexin V[J]. *Chest*, 2000, 117(3): 834–840. DOI: 10.1378/chest.117.3.834.
- [3] Jibrán SM, Muhammad IG. Clinical patterns of seronegative spondyloarthropathies in a tertiary centre in Pakistan[J]. *J Taibah Univ Med Sci*, 2018, 13(3): 298–301. DOI: 10.1016/j.jtumed.2018.03.002.
- [4] 王小龙, 赵建民, 刘瑞, 等. 细胞凋亡在激素诱导性股骨头坏死中的研究进展[J]. *实用骨科杂志*, 2015, 21(1): 56–59.
Wang XL, Zhao JM, Liu R, et al. The research development of cell apoptosis in hormone induced femoral head necrosis[J]. *J Pract Orthopaedics*, 2015, 21(1): 56–59.
- [5] 赵阳, 彭景, 张雪宁. MR 分子探针与分子成像的研究进展[J]. *国际医学放射学杂志*, 2015, 38(5): 455–460. DOI: 10.3874/j.issn.1674–1897.2015.05.Z0510.
Zhao Y, Peng J, Zhang XN. Progress in magnetic molecular probes and molecular magnetic resonance imaging[J]. *Int J Med Radiol*, 2015, 38(5): 455–460. DOI: 10.3874/j.issn.1674–1897. 2015.05. Z0510.
- [6] 安淑娟, 宋少莉, 黄钢. 放射性核素标记的凋亡显像剂的研究进展[J]. *国际放射医学核医学杂志*, 2015, 39(6): 470–477. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673–4114.2015.06.008.
An SX, Song SL, Huang G. Recent advances in apoptosis imaging using radionuclide-labeled tracers[J]. *Int J Radiat Med Nucl Med*, 2015, 39(6): 470–477. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673–4114. 2015. 06.008.
- [7] 王健, 宋秀宇, 徐文贵, 等. 乳腺癌放射性核素分子成像研究进展 [J]. *国际医学放射学杂志*, 2015, 38(4): 361–365. DOI: 10.3874/j.issn.1674–1897.2015.04.Z0411.
Wang J, Song XY, Xu WG, et al. The research progress of radionuclide molecular imaging for breast cancer[J]. *Int J Med Radiol*, 2015, 38(4): 361–365. DOI: 10.3874/j.issn.1674–1897. 2015.04.Z0411.
- [8] 杨桂芬, 朱虹. 放射性核素标记 Annexin V 细胞凋亡分子成像在肿瘤化疗疗效评估中的价值[J]. *国际医学放射学杂志*, 2013, 36(2): 155–159. DOI: 10.3874/j.issn.1674–1897.2013.02.Z0212.
Yang GF, Zhu H. Molecular imaging of cell apoptosis with radiolabeled Annexin V in the evaluation of tumor response to chemotherapy[J]. *Int J Med Radiol*, 2013, 36(2): 155–159. DOI: 10.3874/j.issn.1674–1897.2013.02.Z0212.
- [9] Pietkiewicz S, Schmidt JH, Lavrik IN. Quantification of apoptosis and necroptosis at the single cell level by a combination of imaging flow cytometry with classical Annexin V/propidium iodide staining [J]. *J Immunol Methods*, 2015, 423: 99–103. DOI: 10.1016/j.jim. 2015.04.025.
- [10] Head T, Dau P, Duffort S, et al. An enhanced bioluminescence-based Annexin V probe for apoptosis detection in vitro and in vivo [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2826[2018–08–12]. <https://www.nature.com/articles/cddis2017141>. DOI: 10.1038/cddis.2017. 141.
- [11] Bauwens M, De Saint-Hubert M, Devos E, et al. Site-specific ⁶⁸Ga-labeled Annexin A5 as a PET imaging agent for apoptosis[J]. *Nucl Med Biol*, 2011, 38(3): 381–392. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2010. 09. 008.
- [12] Lin MH, Wu SY, Wang HE, et al. ¹¹¹In-DOTA-Annexin V for imaging of apoptosis during HSV1-tk/GCV prodrug activation gene therapy in mice with NG4T4 sarcoma[J]. *Appl Radiat Isot*, 2016, 108: 1–7. DOI: 10.1016/j.apradiso. 2015.11.017.
- [13] Vangestel C, Peeters M, Mees G, et al. In vivo imaging of apoptosis in oncology: an update[J]. *Mol Imaging*, 2011, 10(5): 340–358. DOI: 10.2310/7290.2010.00058.
- [14] Schaper FL, Reutlingsperger CP. ^{99m}Tc-HYNIC-Annexin A5 in Oncology: Evaluating Efficacy of Anti-Cancer Therapies[J]. *Cancers (Basel)*, 2013, 5(2): 550–568. DOI: 10.3390/cancers5020550.
- [15] Zhang S, Wu Z, Li J, et al. Evaluation of the clinical relevance of anti-annexin-A5 antibodies in Chinese patients with antiphospholipid syndrome[J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(2): 407–412. DOI: 10.1007/s10067–016–3510–8.
- [16] Belhocine T, Steinmetz N, Hustinx R, et al. Increased uptake of the apoptosis-imaging agent ^{99m}Tc 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): 2766–2774.
- [17] Van de Wiele C, Vermeersch H, Loose D, et al. Radiolabeled annexin-V for monitoring treatment response in oncology[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2004, 19(2): 189–194. DOI: 10.1089/1084978 04323071968.
- [18] Tang C, Wang F, Hou Y, et al. Technetium-99m-labeled annexin V imaging for detecting prosthetic joint infection in a rabbit model[J]. *J Biomed Res*, 2015, 29(3): 224–231. DOI: 10.7555/JBR.29. 2013. 01.13.
- [19] Schaper FL, Reutlingsperger CP. ^{99m}Tc-HYNIC-Annexin A5 in Oncology: Evaluating Efficacy of Anti-Cancer Therapies[J]. *Cancers*, 2013, 5(2): 550–568. DOI: 10.3390/cancers5020550.
- [20] Hu Y, Liu G, Zhang H, et al. A Comparison of ^{99m}Tc-Duramycin and ^{99m}Tc-Annexin V in SPECT/CT Imaging Atherosclerotic Plaques[J]. *Mol Imaging Biol*, 2018, 20(2): 249–259. DOI: 10.1007/s11307–

- 017-1111-9.
- [21] Khoda Me, Utsunomiya K, Ha-Kawa S, et al. An investigation of the early detection of radiation induced apoptosis by ^{99m}Tc -Annexin V and ^{201}Tl -chloride in a lung cancer cell line[J]. J Radiat Res, 2012, 53(3): 361-367. DOI: 10.1269/jrr.11177.
- [22] Taki J, Higuchi T, Kawashima A, et al. Effect of postconditioning on myocardial ^{99m}Tc -annexin-V uptake: comparison with ischemic preconditioning and caspase inhibitor treatment[J]. J Nucl Med, 2007, 48(8): 1301-1307. DOI: 10.2967/jnumed.106.037408.
- [23] Doue T, Ohtsuki K, Ogawa K, et al. Cardioprotective effect of erythropoietin in rats subjected to ischemia-reperfusion injury: assessment of infarct size with ^{99m}Tc -Annexin V[J]. J Nucl Med, 2008, 49(10): 1694-1700. DOI: 10.2967/jnumed.107.050260.
- [24] Keitselaer BL, Reutelingsperger CP, Boersma HH, et al. Noninvasive detection of programmed cell loss with ^{99m}Tc -labeled Annexin A5 in heart failure[J]. J Nucl Med, 2007, 48(4): 562-567. DOI: 10.2967/jnumed.106.039453.
- [25] Hu S, Kiesewetter DO, Zhu L, et al. Longitudinal PET imaging of doxorubicin-induced cell death with ^{18}F -Annexin V[J]. Mol Imaging Biol, 2012, 14(6): 762-770. DOI: 10.1007/s11307-012-0551-5.
- [26] 胡四龙. ^{18}F -ML-10 PET/CT 评价胰腺癌放疗后细胞凋亡的实验研究[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
Hu SL. ^{18}F -ML-10 PET/CT evaluation of pancreatic cancer cell apoptosis after concurrent chemoradiation experimental research [D]. Shanghai: Fudan University, 2013.
- [27] 陈顺军. ^{18}F -ML-10 PET/CT 显像探测化疗后肿瘤细胞凋亡的实验研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
Chen SJ. ^{18}F -ML-10 PET/CT imaging detection experiment research of tumor cell apoptosis after chemotherapy[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2017.
- [28] Liu M, Zheng S, Zhang X, et al. Cerenkov luminescence imaging on evaluation of early response to chemotherapy of drug-resistant gastric cancer[J]. Nanomedicine, 2018, 14(1): 205-213. DOI: 10.1016/j.nano.2017.10.001.
- [29] 张毅, 郭瀛军, 王芳, 等. Annexin B1: 一种新的细胞凋亡检测用蛋白[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(3): 333-334. DOI: 10.3321/j.issn:0258-879X.2003.03.031.
Zhang Y, Guo YJ, Wang F, et al. Annexin B1 as a novel protein for detecting apoptosis[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2003, 24(3): 333-334. DOI: 10.3321/j.issn:0258-879X.2003.03.031.
- [30] 郑宇佳, 王明伟, 张建平, 等. ^{18}F -SFB-Annexin B1 探测化疗后肿瘤细胞凋亡的实验研究[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(10): 798-803. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.10.004.
Zheng YJ, Wang MW, Zhang JP, et al. Experimental study on tumor response to chemotherapy with ^{18}F -SFB-Annexin B1[J]. Chin Oncol, 2013, 23(10): 798-803. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969. 2013. 10. 004.
- [31] 赵庆, 章英剑, 王芳, 等. ^{18}F -SFB-Annexin B1 探测细胞凋亡实验研究[J]. 中华核医学杂志, 2011, 31(2): 112-116. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9780.2011.02.010.
Zhao Q, Zhang YJ, Wang F, et al. Evaluation of ^{18}F -SFB-Annexin B1 in detecting apoptosis[J]. Chin J Nucl Med, 2011, 31(2): 112-116. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9780.2011.02.010.
- [32] Wang MW, Wang F, Zheng YJ, et al. An in vivo molecular imaging probe ^{18}F -Annexin B1 for apoptosis detection by PET/CT preparation and preliminary evaluation[J]. Apoptosis, 2013, 18(2): 238-247. DOI: 10.1007/s10495-012-0788-0.
- [33] 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): 1367-1374.
- [34] 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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2006.03.008.
Fang W, Wang F, Ji SD, et al. Experimental study of myocardial cell apoptosis with ^{99m}Tc -FM2 imaging[J]. Chin J Nucl Med, 2006, 26(3): 137-140. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2006.03.008.
- [35] Wang F, Fang W, Zhang MR, et al. Evaluation of chemotherapy response in VX2 rabbit lung cancer with ^{18}F -labeled C2A domain of synaptotagmin I[J]. J Nucl Med, 2011, 52(4): 592-599. DOI: 10.2967/jnumed.110.081588.
- [36] 黄斌, 方纬, 田伟, 等. ^{68}Ga -NOTA-Duramycin 的标记与生物分布实验研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2012, 32(4): 286-290. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2012.04.011.
Huang B, Fang W, Tian W, et al. Experimental study of labeling and biodistribution of ^{68}Ga -NOTA-Duramycin[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2012, 32(4): 286-290. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848. 2012.04.011.
- [37] Hasim S, Allison DP, Mendez B, et al. Elucidating Duramycin's Bacterial Selectivity and Mode of Action on the Bacterial Cell Envelope[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 219. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00219.
- [38] Huo L, Ökesli A, Zhao M, et al. Insights into the Biosynthesis of Duramycin[J]. Appl Environ Microbiol, 2017, 83(3): e02698-16. DOI: 10.1128/AEM.02698-16.
- [39] Mills JC, Stone NL, Erhardt J, et al. Apoptotic membrane blebbing is regulated by myosin light chain phosphorylation[J]. J Cell Biol, 1998, 140(3): 627-636. DOI: 10.1083/jcb.140.3.627.
- [40] Liu Z, Larsen BT, Lerman LO, et al. Detection of atherosclerotic plaques in ApoE-deficient mice using ^{99m}Tc -duramycin[J]. Nucl Med Biol, 2016, 43(8): 496-505. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2016.05.007.
- [41] Wang L, Wang F, Fang W, et al. The feasibility of imaging myocardial ischemic/reperfusion injury using ^{99m}Tc -labeled duramycin in a porcine model[J]. Nucl Med Biol, 2015, 42(2): 198-204. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2014.09.002.
- [42] Zhang Y, Stevenson GD, Barber C, et al. Imaging of rat cerebral ischemia-reperfusion injury using ^{99m}Tc -labeled duramycin[J]. Nucl Med Biol, 2013, 40(1): 80-88. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2012.09.004.

司甲类大型医疗设备咨询专家；中国核学会核医学分会理事；江西核学会常务理事、核医学专委会副主委；江西省抗癌协会放射性粒子微创治疗专委会、肿瘤核医学专委会主委；江西省卫生系统学术技术带头人。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展，不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 江伟负责论文的撰写与修订；付蕾、尹国涛负责病例与文献的收集；于筱舟、朱湘负责论文的审核与校对；徐文贵负责方案的提出与设计、论文的审阅。

参 考 文 献

- [1] 王连唐, 刘子君. 5444例原发性恶性骨肿瘤组织病理学统计分析[J]. 中国肿瘤临床, 2007, 34(8): 457-461. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2007.08.011.
Wang LT, Liu ZJ. Histopathological Survey and Analysis of 5444 Cases with Malignant Primary Bone Tumor[J]. Chin J Clin Oncol, 2007, 34(8): 457-461. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2007.08.011.
- [2] Biermann JS, Adkins D, Benjamin R, et al. Bone cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2007, 5(4): 420-437. DOI: 10.6004/jnccn.2007.0037.
- [3] Ottaviani G, Jaffe N. The epidemiology of osteosarcoma[J]. Cancer Treat Res, 2009, 152: 3-13. DOI: 10.1007/978-1-4419-0284-9_1.
- [4] Isakoff MS, Bielack SS, Meltzer P, et al. Osteosarcoma: Current Treatment and a Collaborative Pathway to Success[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(27): 3029-3035. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4895.
- [5] Henk CB, Grampp S, Wiesbauer P, et al. Das Ewing-Sarkom Bildgebende Diagnostik[J]. Der Radiologe, 1998, 38(6): 509-522. DOI: 10.1007/s001170050386.
- [6] Palmerini E, Colangeli M, Nanni C, et al. The role of FDG PET/CT in patients treated with neoadjuvant chemotherapy for localized bone sarcomas[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2017, 44(2): 215-223. DOI: 10.1007/s00259-016-3509-z.
- [7] Kim SK, Park YK. Ewing sarcoma: a chronicle of molecular pathogenesis[J]. Hum Pathol, 2016, 55: 91-100. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.05.008.
- [8] Ozaki T. Diagnosis and treatment of Ewing sarcoma of the bone: a review article[J]. J Orthop Sci, 2015, 20(2): 250-263. DOI: 10.1007/s00776-014-0687-z.
- [9] Iwamoto Y. Diagnosis and treatment of Ewing's sarcoma[J]. Jpn J Clin Oncol, 2007, 37(2): 79-89. DOI: 10.1093/jjco/hyl142.
- [10] Györke T, Zajic T, Lange A, et al. Impact of FDG PET for staging of Ewing sarcomas and primitive neuroectodermal tumours [J]. Nucl Med Commun, 2006, 27(1): 17-24. DOI: 10.1097/01.mnm.0000186608.12895.69
- [11] Byun BH, Kong CB, Lim I, et al. Comparison of ¹⁸F-FDG PET/CT and ^{99m}Tc-MDP bone scintigraphy for detection of bone metastasis in osteosarcoma[J]. Skeletal Radiol, 2013, 42(12): 1673-1681. DOI: 10.1007/s00256-013-1714-4.
- [12] Hurley C, McCarville MB, Shulkin BL, et al. Comparison of ¹⁸F-FDG-PET-CT and Bone Scintigraphy for Evaluation of Osseous Metastases in Newly Diagnosed and Recurrent Osteosarcoma [J]. Pediatr Blood Cancer, 2016, 63(8): 1381-1386. DOI: 10.1002/pbc.26014.
- (收稿日期: 2018-09-27)
-
- (上接第 564 页)
- [43] Montiel-Cervantes LA, Reyes-Maldonado E, Garcia-Chavez J, et al. Prognostic Value of CD95, Active Caspase-3, and Bcl-2 Expression in Adult Patients with De Novo Acute Lymphoblastic Leukemia[J]. Arch Med Res, 2018, 49(1): 44-50. DOI: 10.1016/j.arcmed.2018.04.006.
- [44] Zhou D, Chu W, Rothfuss J, et al. Synthesis, radiolabeling, and in vivo evaluation of an ¹⁸F-labeled isatin analog for imaging caspase-3 activation in apoptosis[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(19): 5041-5046. DOI: 10.1016/j.bmcl.2006.07.045.
- [45] 葛青山. 新型双光子纳米探针的构建及用于 caspase-3 活性检测研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2017.
Ge QS. The construction of a new two-photon nanoprobe and used in the study of caspase 3 activity detection[D]. Changsha: Hunan University, 2017.
- [46] Xia CF, Chen G, Gangadharmath U, et al. In vitro and in vivo evaluation of the caspase-3 substrate-based radiotracer ¹⁸F-CP18 for PET imaging of apoptosis in tumors[J]. Mol Imaging Biol, 2013, 15(6): 748-757. DOI: 10.1007/s11307-013-0646-7.
- [47] Madar I, Ravert H, Nelkin B, et al. Characterization of membrane potential-dependent uptake of the novel PET tracer ¹⁸F-fluorobenzyltriphenyl phosphonium cation[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2007, 34(12): 2057-2065. DOI: 10.1007/s00259-007-0500-8.
- [48] Higuchi T, Fukushima K, Rischpler C, et al. Stable delineation of the ischemic area by the PET perfusion tracer ¹⁸F-fluorobenzyl triphenyl phosphonium after transient coronary occlusion[J]. J Nucl Med, 2011, 52(6): 965-969. DOI: 10.2967/jnumed.110.085993.
- [49] 王腾腾, 张锦明, 张涛, 等. PET 小分子凋亡显像示踪剂的研究进展[J]. 解放军医学院学报, 2015, 36(6): 637-639. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2015.06.032.
Wang TT, Zhang JM, Zhang T, et al. Advances in small molecule radiotracer for PET imaging apoptosis[J]. Acad Chin PLA Med Sch, 2015, 36(6): 637-639. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2015.06.032.
- [50] Oborski MJ, Laymon CM, Lieberman FS, et al. First use of ¹⁸F-labeled ML-10 PET to assess apoptosis change in a newly diagnosed glioblastoma multiforme patient before and early after therapy[J]. Brain Behav, 2014, 4(2): 312-315. DOI: 10.1002/brb3.217.
- (收稿日期: 2018-08-13)