

分子影像技术在肿瘤细胞凋亡的研究现状及进展

刘 岩¹, 任佳忠¹, 杨国仁²

(1. 济南大学, 山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250117;

2. 山东大学附属山东省肿瘤医院, 山东 济南 250117)

摘 要:细胞凋亡是由多种基因调控的主动性细胞死亡过程。通过放疗、化疗等手段诱导肿瘤细胞凋亡是各种抗肿瘤治疗的主要机制之一。分子影像学可以在细胞和分子水平上对活体内细胞凋亡的生物过程和某些疾病的发生机制进行定性、定量、实时监测。分子影像技术主要包括 PET、SPECT、MRI、超声成像、光学成像。全文主要对分子影像技术在肿瘤细胞凋亡的应用进行综述。

主题词:肿瘤细胞; 细胞凋亡; 分子影像探针

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)06-0496-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.06.B008

Current Status and Advances on the Application of Molecular Imaging Techniques in Cancer Cell Apoptosis

LIU Yan¹, REN Jia-zhong¹, YANG Guo-ren²

(1. School of Medicine and Life Science, Shandong Academy of Medical Sciences, University of Jinan, Jinan 250117, China; 2. Shandong Cancer Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250117, China)

Abstract: Apoptosis is a programmed cell death process involving a variety of gene regulation. To induce tumor cell apoptosis is one of the main mechanisms of antitumor therapy, including radiotherapy and chemotherapy. Cell apoptosis and biological process of diseases can be real-time, qualitatively and quantitatively monitored at the cellular and molecular level in the living body. The molecular imaging techniques include PET, SPECT, MRI, ultrasonic imaging and optical imaging. This article reviews the value of various molecular imaging techniques in monitoring of cancer cell apoptosis.

Subject words: tumor cells; apoptosis; molecular imaging probe

Weissleder 等最早提出分子影像学的概念^[1], 即应用影像学显像的方法, 在细胞和分子水平上对活体的生物过程进行定性和定量研究的一门学科。它是将生理学、化学、医学、药理学、物理学、生物数学和生物信息学相结合的一项新技术。分子影像使得许多亚临床状态的疾病和隐匿的遗传性疾病得以明确诊断^[2]。分子影像成像技术主要包括正电子发射计算机体层摄影(PET)、单光子发射计算机体层摄影(SPECT)、超声分子成像、磁共振成像(MRI)和光学成像。

“细胞凋亡”最早于 1972 年由 Kerr 等提出^[3], 即细胞在一定生理或病理条件下, 通过一系列基因的激活、表达及调控, 按照自身程序出现的主动性、生理性的死亡过程。在凋亡期间, 细胞经过一系列的形态改变, 包括核固缩和碎裂, 最终导致凋亡体的形成和细胞死亡, 被吞噬细胞吞噬。细胞凋亡通路十分复杂, 至今很多因素尚未明确。目前认为细胞凋亡所参与的通路至少有: 线粒体通路、死亡受体通路、内质网通路和 PI3K-Akt 信号通路, 这些通路中涉及到早期位于细胞膜脂质双分子层内侧的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS) 翻转到细胞膜表面, Caspase 级联反应激活, 细胞膜印记的改变, 线粒体膜电位消失, 这些变化都可被作为生物靶标, 通过分子影像探

通讯作者: 杨国仁, 科主任, 教授, 硕士; 山东大学附属山东省肿瘤医院核医学科, 山东省济南市济南路 440 号 (250117); E-mail: guoren.yang@163.com

收稿日期: 2016-12-01; **修回日期:** 2017-01-13

针标记配体与肿瘤凋亡细胞中特异靶标结合的特性即可进行肿瘤细胞凋亡分子显像^[4-7]。

1 核医学肿瘤细胞凋亡探针的研究

PET/SPECT 核分子影像学是目前最成熟的分子影像技术,是经典的功能、代谢显像,具有灵敏度高、可定量、以及将动物实验结果直接推及至临床等优点。核医学成像基本原理是将极微量的分子探针引入体内,因其性质不同而选择性地聚集在相应的部位,以影像方式定性或定量脏器、组织或病变,进而对脏器功能、代谢情况及某些受体功能状况做出判断,最终实现在分子水平上对疾病的评估。

1.1 靶向磷脂酰丝氨酸(PS)/磷脂酰乙醇胺(PE)的肿瘤细胞凋亡探针

活细胞中,PS 和 PE 主要存在于细胞膜的内侧小叶,而外侧小叶主要含有磷脂酰胆碱和鞘磷脂,其中 PS 占细胞总磷脂的 2%~10%。凋亡细胞接受刺激后,PS 和 PE 通过依赖 ATP 的主动运输机制从细胞膜内侧翻转到细胞膜表面,暴露在细胞外环境中。PS/PE 的该跨膜翻转特点使得它们成为适合的分子显像靶物。

^{99m}Tc-HYNIC-Annexin V 是第一个进入临床试验的显像剂,作为代表性的显像剂用于监测肿瘤细胞凋亡较为普遍,此应用已进入非小细胞肺癌临床实验的 II~III 阶段。但是后来通过动物实验^[8]证明由于动物之间的差异,^{99m}Tc-HYNIC-annexin V 不能精确的评估肿瘤细胞凋亡的区域。再者由于 Annexin V 相对分子质量大、血液清除较慢等原因(^{99m}Tc-Annexin V)造成早期显像质量不佳,而且其标记方法复杂、信噪比低(^{99m}Tc-HYNIC-annexin V),不能精确的预测经过放化疗后肿瘤细胞的治疗反应,因此在临床上应用不够理想^[9]。后来研究发现 Annexin A5、Annexin B1 在 Ca²⁺存在下与凋亡细胞的 PS 有很高的结合力。相关文献报道^[10,11]通过小鼠体内实验证明:肿瘤对 ^{99m}Tc-Annexin A5 的摄取与肿瘤细胞凋亡呈正相关,^{99m}Tc-Annexin A5 可作为一种潜在的凋亡探针。但是 Annexin A5 类显像剂在泌尿系统有较高摄取,影响了其在泌尿系统的显像,且血液清除率低、制备过程复杂,因此限制了它的临床应用。Wang 等^[12]通过体内试验证明靶向 PS 的 PET 探针(¹⁸F-

Annexin-B1)能够实时探测肿瘤凋亡细胞,可以应用于肿瘤疗效的评估,对腹部病灶的检测更具优势,然而它仍难以区分凋亡和坏死。

耐久霉素(Duramycin)^[13]是由 19 个氨基酸构成的抗微生物的肽类物质,其在肾脏中清除速率快,在小鼠体内血液清除率小于 4min,肝脏和胃肠道的吸收率低。Duramycin 对 PE 有强亲和力,^{99m}Tc-耐久霉素已经用于肿瘤细胞 SPECT 凋亡成像^[14]。Elvas 等通过^[13,15]多次动物实验证明肿瘤凋亡细胞与非凋亡细胞相比,对 ^{99m}Tc-Duramycin 摄取量显著增加。Luo 等^[16]通过实验研究评估了 ^{99m}Tc-Duramycin 的可行性,发现 ^{99m}Tc-Duramycin 可以早期地监测小鼠乳腺癌细胞凋亡。Yao 等^[17]研发了 ¹⁸F 标记的 Duramycin,是一种监测细胞凋亡的新型 PET 显像剂,证实 ¹⁸F-duramycin 可以有效监测小鼠肿瘤细胞的凋亡,但是其药物动力学不能达到实验要求,¹⁸F-duramycin 在脾脏有高摄取率,因而限制了其在监测腹部肿瘤细胞凋亡的应用。

肿瘤细胞坏死时也出现 PS/PE 外翻,所以靶向 PS/PE 的肿瘤细胞凋亡探针主要缺点是难以区分凋亡和坏死。此外,识别靶点仅限于膜表面,探针难以进入细胞内形成信号放大,导致显像剂灵敏度相对不高。

1.2 靶向 Caspase-3 的肿瘤细胞凋亡探针

细胞凋亡是由蛋白水解级联反应介导的。Caspase 是一组半胱天冬氨酸酶,当蛋白水解级联反应介导凋亡发生时,该酶参与凋亡起始、调节和执行下游一系列酶联反应事件^[18]。凋亡过程中,Caspase 激活早于 PS/PE 外翻,且 Caspase-3 的激活只存在于凋亡细胞,由此可以区分坏死和凋亡,特异性更高。根据 Caspase-3 的反应类型的不同,分为 Caspase-3 直接拮抗剂类(小分子类)和 Caspase-3 的底物衍生物类。

1.2.1 Caspase-3 直接拮抗剂

靛红类化合物是一类非肽类的 Caspase-3 抑制剂,检测 Caspase-3 的探针是从该类小分子抑制剂衍生而来^[19]。细胞内 Caspase-3 活化后,该靛红类分子的二巯基能共价结合到 Caspase-3 活性中心的半胱氨酸残基,起到拮抗 Caspase-3 的作用^[20]。¹⁸F 标记的靛红氨苯磺胺类探针研究较多,比如 ¹⁸F-ICMT-11, PET 显像实验已经证实该探针的摄取与肿瘤细胞凋

亡呈正相关。目前对于 ^{18}F -ICMT-11 的研究也已进入临床研究阶段,但由于其腹部摄取值高、体内特异性差、临床研究资料缺乏等缺点,其临床实用性仍需进一步验证^[21,22]。靛红类化合物生物分布不佳,显像效果较差,因此进一步研究难度较大。

1.2.2 Caspase-3 的底物衍生物类

Caspase-3 的底物衍生物类结构中含有 4 个氨基酸残基 D-E-V-D(Asp-Glu-Val-Asp)的序列,使得该类探针能够被 Caspase-3 酶特异性识别,显示 Caspase-3 的活性。柳曦等^[23]开发含-DEVD-核心的正电子核素 ^{18}F 标记的 Caspase3 多肽活性显像药物 ^{18}F -Pen-peptide,证实肿瘤对 ^{18}F -Pen-peptide 的摄取量与肿瘤的凋亡相一致。但是之前的一些显像实验^[24]发现图像有相对较低的信噪比值,这可能是因为 D-E-V-D 并不单纯是 Caspase-3 的特异识别位点,活体内还存在其他的酶能够识别该类探针。底物衍生物类虽然具有合成简单、结构易于修饰、低免疫原性等特点,但多肽的渗透性和代谢不稳定性限制了它的发展。

1.3 靶向细胞膜印记改变的肿瘤细胞凋亡探针

Aposenese 化合物是一种 PET 凋亡显像剂,其特点是在凋亡细胞早期可以进入细胞并在胞质中聚集,另外可以探测到凋亡细胞的酸化作用以及凋亡细胞膜的去极化。Apo-sense 化合物包括 DDC、ML-10、ML-8、NST-732 和 NST-729。其中 ^{18}F -ML-10 是第一个进入临床阶段的 PET 凋亡小分子显像剂。Matthew 等^[25]运用 ^{18}F -ML-10 示踪剂对多形性胶质母细胞瘤(GBM)患者进行研究,GBM 细胞对 ^{18}F -ML-10 的摄取与 GBM 的凋亡情况相一致。张晓军等^[26]合成 ^{18}F -ML-10,通过动物实验以及临床实验证明其具有良好的生物学分布特性,可用于颅脑转移瘤患者放疗后的早期凋亡评价。Yao 等^[27]应用新型凋亡探针 ^{18}F -ML-8 进行体外细胞实验,可以对肿瘤细胞的凋亡程度无创可视化。这类小分子化合物的主要优势在于核素标记方法简单,有更好的生物分布和快速清除率,不会引起机体的副反应,可区分凋亡与坏死。然而,部分 Aposenese 化合物的所需剂量较高,增加了潜在的药物毒性,而且此类探针特异度和灵敏度都较低,需要进一步优化此探针的性能。

1.4 基于线粒体膜电位特征变化的肿瘤细胞凋亡评价

正常细胞的线粒体跨膜负电位水平高,允许阳

离子内向移动到线粒体基质,导致亲脂阳离子(疏水性阳离子)聚集于线粒体膜内。该跨线粒体内膜的质子电化学梯度的丧失是细胞凋亡的特征之一,线粒体膜势能的变化可被亲脂阳离子的复位电位水平反映出来^[28]。细胞内含有大量数目的线粒体,因此可作为潜在的凋亡有效靶点。实验发现用于凋亡显像的 ^{18}F 标记的器官组织阳离子 ^{18}F -FBnTP^[29],肿瘤对 ^{18}F -FBnTP 的摄取量与肿瘤的凋亡成反比趋势。该类探针在活体显像随着越来越多的线粒体跨膜的质子电化学梯度丧失,摄取速率较快减少,信号也随之很快减少,这造成了应用该类探针显像的困难。

2 磁共振肿瘤细胞凋亡探针

MRI 是一种多能的、无辐射肿瘤成像技术,能够非侵袭性提供包括解剖、生理甚至分子信息等体内多种信息,具有良好的时间和空间分辨率以及优秀的软组织对比及组织穿透力,能够实现多序列、多参数成像。但是 MRI 敏感性相对较低,常使用钆配合物造影剂(T1 对比剂)以增强 MRI 成像效果。同时,纳米分子探针(T2 对比剂)在 MRI 成像中的应用极大地增强了其对活体内组织、细胞及分子水平生理生化变化过程(细胞增殖、生物合成、代谢、凋亡、信号通路改变等)的鉴别能力,使 MRI 分子影像在肿瘤诊断、分期、个性化治疗、疗效监测等各方面的应用发挥重要作用。

2.1 Gd 类分子探针

此类探针大多通过配体-受体特异性结合或抗原-抗体特异性结合,携带大量的钆螯合物到达靶点,产生 T1 阳性信号对比。Ye 等^[30]通过诱导小鼠肿瘤细胞凋亡实验发现:与未经诱导小鼠肿瘤细胞凋亡小鼠相比,用 Gd-MRI 探针检测 caspase-3/7 酶的活性显示 T1 高信号,认为 Gd-MRI 探针对于探测体内肿瘤细胞凋亡具有潜在价值。

2.2 磁性纳米颗粒

此类对比剂大多由氧化铁核心或其他以铁和铁的氧化物组成的磁性物质纳米颗粒,可以产生 T2 阴性信号对比,与钆剂相比,氧化铁颗粒具有较高弛豫率,能够产生更强的 MR 信号对比(钆剂检测灵敏度为 $10^4 \sim 10^5 \text{ mol/L}$,而氧化铁颗粒检测灵敏度达 10^9 mol/L)。Figge 等^[31]应用 Anx-VSOP(氧化铁颗粒)

作为 MRI 探针,此探针可与凋亡细胞 Annexin A5 相结合,表现为 T2 阴性信号,可用于凋亡细胞的监测。Tseng 等^[32]应用 Cet-PEG-dexSPION 纳米探针证实可以准确的监测凋亡细胞,是一种有前途的 MRI 探针。Xu 等^[33]合成 DOX@Ps 80-SPIONs 纳米粒子,此粒子既可以作为药物诱导脑胶质瘤细胞凋亡,也可以作为 MRI 探针对治疗效果实时显像。近期研究^[34,35]也不断研发其他类型的新型分子探针如:靶向 caspase-3 的 MRI 造影剂(C-SNAM),AGuIX 纳米颗粒探针,其信号的增强程度与肿瘤细胞的凋亡情况呈正相关。

3 超声肿瘤细胞凋亡探针

超声分子成像是通过将目的分子特异性抗体或配体连接到声学造影剂表面构筑靶向声学造影剂,使声学造影剂主动结合到靶区,进行特异性的超声分子成像。靶向微泡造影剂是超声分子成像的研究热点问题之一。靶向微泡造影剂由于能够从分子水平识别并结合于病灶,从而在靶点产生特异性显影,因此能更加显著地提高超声对早期病变的诊断能力。但造影剂目前仅限于脉管系统,还未能应用于细胞凋亡领域的监测。

细胞凋亡早期,细胞核浓缩,染色质边集,最后分裂为核碎片,此变化在超声显像表现为回声增强,从而可以清晰的看到细胞凋亡图像,其中高频超声对凋亡细胞的胞核形态学改变较为敏感。Vlad 等^[36]通过实验探测到运用高频超声检测凋亡细胞核,回声增加的强度与凋亡程度呈正相关。目前基于超声探测肿瘤细胞凋亡的实验研究甚少,可用探针较少,且超声对肿瘤细胞凋亡的实用性仍需大量实验研究证明。高频超声的主要限制是其超声波在软组织中穿透性较差,仅仅适用于表浅的皮肤癌和乳腺癌凋亡细胞的探测,而且特异性较差,因此临床应用受到较大限制。

4 光学肿瘤细胞凋亡探针

光学成像技术^[37]是指利用光发射的原理探测荧光或生物荧光染料。目前,已有多种探针应用于细胞凋亡光学成像研究。张四洋等^[38]应用小鼠肺癌细胞

A549,分别采用荧光探针 fluo-3AM 和 fluo-4 AM 负载细胞,得出结论:Ca²⁺探针 fluo-3AM 和 fluo-4AM 均可以准确的评估肿瘤细胞凋亡情况。Cho 等^[39]应用 PEG-b-PCL 胶束作为荧光显像剂,通过近红外荧光显像,证明 PEG-b-PCL 胶束可以实时监测肿瘤凋亡细胞,可应用于术前指导。Jung 等^[40]通过实验证明 Apopep-1 在近红外荧光显像中能实时显示肿瘤细胞的凋亡情况,对胃癌的疗效评价具有一定潜力。Jolivel 等^[41]利用远红荧光探针(QCASP3.2),此探针可以靶向细胞凋亡途径中的关键酶 caspase-3,实验证明此探针可反映 caspase-3 的活性,可应用于肿瘤细胞凋亡的监测。Kazmierczak 等^[42]在结肠癌试验中应用基于膜联蛋白的荧光探针进行细胞凋亡探测,证实该探针可以无创、实时的对凋亡细胞进行监测。Xiao 等^[43]发现一种荧光共振能量转移报告基因的工具可以在二维空间分析细胞的信号和功能,对乳腺癌小鼠诱导其凋亡,运用此荧光技术可以准确实时地从细胞水平监测肿瘤的治疗反应。

5 展 望

分子影像学是交叉领域,为临床提供无创性、活体内从解剖学到功能诊断的信息。但是分子影像学也存在一些不足之处,比如:核素示踪技术具有高灵敏度,但设备空间分辨率不如 MRI、超声等影像技术以及多种核医学分子探针的构建仅用于动物实验研究,仅部分分子探针实践到临床,另外,部分核医学探针不能有效的区分凋亡和坏死,而且部分探针有药物毒性以及显像效果差;磁共振分子探针灵敏度相对较低,时间和空间分辨率差,部分显像剂在体内代谢太快、MR 成像时间长、难于修饰且无靶向;超声显像的图像对比度、特异性较差,且对探测深层结构的肿瘤细胞凋亡尚未达到临床所需求的效果;光学分子影像具有无创伤实时、活体、特异、精细显像等优点,与其它分子影像技术相比,光学分子影像具有较高的时间/空间分辨率以及价格适中等特点,但就光学成像发展的总体趋势看来仍还有很多缺陷,比如其低穿透性,缺乏量化,不能全身显像,不能准确的测量肿瘤体积的大小等等。为克服分子影像的以上不足,需研究者不断针对肿瘤细胞凋亡过程中的各种靶点,对肿瘤细胞凋亡分子探针进行优化或

构建。近年来,肿瘤细胞凋亡的生物学研究越来越深入,进一步阐明了肿瘤细胞凋亡的发生过程,与此同时,分子影像技术发展也较为迅速,二者的有机结合必将推动针对肿瘤细胞凋亡的新标志物研究,推动活体内肿瘤细胞凋亡的研究进程,成为肿瘤诊治的关键。

参考文献:

- [1] Massoud TF, Gambhir S. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(5): 545–580.
- [2] Wang RF. Development of nuclear medicine in oncology [J]. *Chinese Journal of Medical Imaging Technology*, 2004, 20(11): 1792–1796. [王荣福. 肿瘤影像核医学进展[J]. 中国医学影像学, 2004, 20(11): 1792–1796.]
- [3] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. *Br J Cancer*, 1972, 26(4): 239–257.
- [4] Zhao YC, Gu Y. Progress of apoptosis pathway [J]. *Modern Medical Journal*, 2013, 41(4): 285–288. [赵彦超, 顾耘. 细胞凋亡通路研究进展[J]. 现代医学, 2013, 41(4): 285–288.]
- [5] Wang RF. Nuclear Medicine [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2009. 14. [王荣福. 核医学 [M]. 第 2 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2009. 14.]
- [6] Smith BA, Smith BD. Biomarkers and molecular probes for cell death imaging and targeted therapeutics [J]. *Bioconjug Chem*, 2012, 23(10): 1989–2006.
- [7] Alam IS, Neves AA, Whitney TH, et al. Comparison of the C2A domain of synaptotagmin- I and annexin- V as probes for detecting cell death [J]. *Bioconjug Chem*, 2010, 21(5): 884–891.
- [8] Beekman CA, Buckle T, van Leeuwen AC, et al. Questioning the value of ^{99m}Tc -HYNIC-annexin V based response monitoring after docetaxel treatment in a mouse model for hereditary breast cancer [J]. *Appl Radiat Isot*, 2011, 69(4): 656–662.
- [9] Zhang RX. Molecular imaging probes: the key to reveal the essence of life activities [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, 32 (2): 81–83. [张永学. 分子影像探针: 揭示生命活动本质的钥匙 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2012, 32(02): 81–83.]
- [10] Lin KJ, Wu CC, Pan YH, et al. In vivo imaging of radiation-induced tissue apoptosis by (^{99m}Tc) -his (6)-annexin A5 [J]. *Ann Nucl Med*, 2012, 26(3): 272–280.
- [11] Lu C, Jiang Q, Hu M, et al. Preliminary biological evaluation of novel ^{99m}Tc -Cys-Annexin A5 as a apoptosis imaging agent [J]. *Molecules*, 2013, 18(6): 6908–6918.
- [12] 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.
- [13] Elvas F, Vangestel C, Pak KY, et al. Early prediction of tumor response to treatment: pre-clinical validation of ^{99m}Tc -duramycin [J]. *J Nucl Med*, 2016, 57(5): 805–811.
- [14] Zhao M, Li Z. A single-step kit formulation for the ^{99m}Tc -labeling of HYNIC-Duramycin [J]. *Nucl Med Biol*, 2012, 39 (7): 1006–1011.
- [15] Elvas F, Boddaert J, Vangestel C, et al. ^{99m}Tc -Duramycin SPECT imaging of early tumor response to targeted therapy: a comparison with ^{18}F -FDG PET [J]. *J Nucl Med*, 2016, 22: 1–28.
- [16] Rui L, Lei N, Fan Q, et al. Monitoring apoptosis of breast cancer xenograft after paclitaxel treatment with ^{99m}Tc -labeled Duramycin SPECT/CT [J]. *Molecular Imaging*, 2016, 29(15): 1–10.
- [17] Yao S, Hu K, Tang G, et al. “Positron emission tomography imaging of cell death with ^{18}F FPDuramycin” [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(5): 841–850.
- [18] Falschlehner C, Boutros M. Innate immunity: regulation of caspases by IAP-dependent ubiquitylation [J]. *EMBO J*, 2012, 31(12): 2750–2752.
- [19] Chen DL, Zhou D, Chu W, et al. Comparison of radiolabeled isatin analogs for imaging apoptosis with positron emission tomography [J]. *Nucl Med Biol*, 2009, 36 (6): 651–658.
- [20] Krause-Heuer AM, Howell NR, Matesic LA, et al. A new class of fluorinated 5-pyrrolidinylsulfonyl isatin caspase inhibitors for PET imaging of apoptosis [J]. *Medchemcomm*, 2013, 4(2): 347–352.
- [21] Challapalli A, Kenny LM, Hallett WA, et al. ^{18}F -ICMT-11, a caspase-3-specific PET tracer for apoptosis: biodistribution and radiation dosimetry [J]. *J Nucl Med*, 2013, 54(9): 1551–1556.
- [22] Nguyen QD, Challapalli A, Smith G, et al. Imaging apoptosis with positron emission tomography: bench to bedside development of the caspase-3/7 specific radiotracer [^{18}F]ICMT-11 [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(4): 432–440.
- [23] Liu X, Zhang BS, Zhou NK, et al. Early detection of tumor response to chemotherapy by molecular apoptosis imaging: An experimental study [J/OL]. *Funct Mol Med Imaging*, 2014, 3(2): 365–370. [柳曦, 张宝石, 周乃康, 等. 凋

- 亡显像早期检测肿瘤化疗疗效的实验研究[J/OL]. 功能与分子医学影像学, 2014, 3(2): 365–370.]
- [24] Hight MR, Cheung YY, Nickels ML, et al. A peptide-based positron emission tomography probe for in vivo detection of caspase activity in apoptotic cells[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(8): 2126–2135.
- [25] 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.
- [26] Zhang XJ, Li YG, Liu J, et al. Preparation and biodistribution of 2-(5-[18F]fluoro-pentyl)-2-methyl-malonic acid and its clinical application[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2016, 36(2): 131–136. [张晓军, 李云钢, 刘健, 等. 18F-ML-10 的制备、生物分布和临床应用[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2016, 36(2): 131–136.]
- [27] Yao S, Hu K, Tang G, et al. Molecular PET imaging of cyclophosphamide induced apoptosis with 18F-ML-8 [J]. Biomed Res Int, 2015: 317403.
- [28] Smith MA, Schnellmann RG. Calpains, mitochondria, and apoptosis[J]. Cardiovasc Res, 2012, 96(1): 32–37.
- [29] Madar I, Ravert H, Nelkin B, et al. Characterization of membranepotential-dependent uptake of the novel PET tracer 18F-fluorobenzyltriphenylphosphonium cation [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2007, 34(12): 2057–2065.
- [30] Ye D, Shuhendler AJ, Pandit P. Caspase-responsive smart gadolinium-based contrast agent for magnetic resonance imaging of drug-induced apoptosis [J]. Chem Sci, 2014, 4(10): 3845–3852.
- [31] Figge L, Applier F, Chen HH, et al. Direct coupling of annexin A5 to VSOP yields small, protein-covered nanoprobes for MR imaging of apoptosis[J]. Contrast Media Mol Imaging, 2014, 9(4): 291–299.
- [32] Tseng SH, Chou MY, Chu IM. Cetuximab-conjugated iron oxide nanoparticles for cancer imaging and therapy[J]. Int J Nanomedicine, 2015, 20(10): 3663–3685.
- [33] Xu HL, Mao KL, Huang YP, et al. Glioma-targeted superparamagnetic iron oxide nanoparticles as drug-carrying vehicles for theranostic effects [J]. Nanoscale, 2016, 8(29): 14222–14236.
- [34] Shuhendler AJ, Ye D, Brewer KD. Molecular magnetic resonance imaging of tumor response to therapy[J]. Sci Rep, 2015, (5): 14759.
- [35] Dentamaro M, Lux F, Vander Elst L, et al. Chemical and in vitro characterizations of a promising bimodal AGuIX probe able to target apoptotic cells for applications in MRI and optical imaging[J]. Contrast Media Mol Imaging, 2016, 11(5): 381–395.
- [36] Vlad RM, Kolios MC, Czarnota GJ. Ultrasound imaging of apoptosis: spectroscopic detection of DNA-damage effects at high and low frequencies [J]. Methods Mol Biol, 2011, 682: 165–187.
- [37] Luker GD, Luker KE. Optical imaging: current applications and future directions[J]. J Nucl Med, 2008, 49(1): 1–4.
- [38] Zhang SY, Li CY, Gao J, et al. Application of the Ca^{2+} indicator Fluo-3 and Fluo-4 in the process of H_2O_2 induced apoptosis of A549 cell[J]. Chin J Lung Cancer, 2014, 17(3): 197–202. [张四洋, 李春艳, 高建, 等. 应用 Ca^{2+} 荧光探针 fluo-3 和 fluo-4 测定 H_2O_2 诱导的 A549 细胞凋亡过程中的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化[J]. 中国肺癌杂志, 2014, 17(3): 197–202.]
- [39] Cho H, Cho CS, Indig GL, et al. Polymeric micelles for apoptosis-targeted optical imaging of cancer and intraoperative surgical guidance[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89968.
- [40] Jung HK, Wang K, Jung MK, et al. In vivo near-infrared fluorescence imaging of apoptosis using histone H1-Targeting peptide probe after anti-cancer treatment with cisplatin and cetuximab for early decision on tumor response [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100341.
- [41] Jolivel V, Arthaud S, Botia B, et al. Biochemical characterization of a Caspase-3 far-red fluorescent probe for non-invasive optical imaging of neuronal apoptosis [J]. J Mol Neurosci, 2014, 54(3): 451–462.
- [42] Kazmierczak PM, Burian E, Eschbach R, et al. Monitoring cell death in regorafenib-treated experimental colon carcinomas using annexin-Based optical fluorescence imaging validated by perfusion MRI [J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0138452.
- [43] Xiao A, Gibbons AE, Luker KE, et al. Fluorescence lifetime imaging of apoptosis [J]. Tomography, 2015, 1(2): 115–124.