

# 肺移植前后可溶性细胞间黏附分子1的变化\*

张笛<sup>1</sup>, 虞竞峰<sup>2</sup>, 肖华龙<sup>2</sup>

## Fluctuation of soluble intercellular adhesion molecule-1 prior to and after lung transplantation

Zhang Di<sup>1</sup>, Yu Jing-feng<sup>2</sup>, Xiao Hua-long<sup>2</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** The soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) assay is based on biotin-streptavidin (BSA) system and has been widely used due to high sensitivity.

**OBJECTIVE:** To establish sICAM-1 BSA time resolution fluoroimmunoassay method (sICAM-1 BSA-TRFIA) and to explore the sICAM-1 fluctuation and clinical significance prior to and after lung transplantation.

**METHODS:** Two matching monoclonal antibodies served as capture immune body and the examination immune body, respectively. The europium-labeled streptavidin (SA-Eu<sup>3+</sup>) served as tracer and combined with biotinylated immune body to establish the sICAM-1 BSA-TRFIA method. This method was used to detect sICAM-1 levels in 30 healthy adults and 26 recipients prior to and after lung transplantation. The clinical significance of sICAM-1 BSA-TRFIA method was evaluated.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The determine results of 30 healthy adults were (348.63±69.12) µg/L. There was no significant difference in sICAM-1 between control and prior to transplantation group. After transplantation, there was obviously difference ( $P < 0.05$ ). The sICAM-1 increased when acute rejection occurs but decreased after concurrent infection, but the differences had no significant. The findings demonstrated that, sICAM-1 BSA-TRFIA method is a novel non-radioactive labeled immunoassay with high sensitivity and wide scope. Monitoring of serum sICAM-1 is helpful to auxiliary diagnosis acute rejection following lung transplantation.

Zhang D, Yu JF, Xiao HL. Fluctuation of soluble intercellular adhesion molecule-1 prior to and after lung transplantation.

Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu Linchuang Kangfu. 2010;14(53): 9897-9901.

[<http://www.criter.cn> <http://en.zglckf.com>]

### 摘要

**背景:** 应用生物素-链亲和素系统建立的可溶性细胞间黏附分子1测定法, 是一种敏感度高、可测范围广的检测方法。

**目的:** 建立可溶性细胞间黏附分子1生物素-链亲和素系统时间分辨荧光免疫分析方法并应用于临床, 探讨肺移植前后血清可溶性细胞间黏附分子1的变化及临床意义。

**方法:** 使用2株匹配的单克隆抗体分别作为捕获抗体和检测抗体, 利用制备的铕标记链亲和素(SA-Eu<sup>3+</sup>)作为示踪物并与生物素化的检测抗体特异结合, 建立双位点多层夹心法, 通过对30例健康人血清可溶性细胞间黏附分子1检测和26例肺移植受者手术前后血清可溶性细胞间黏附分子1的变化测定, 对可溶性细胞间黏附分子1生物素-链亲和素系统方法学和在肺移植术前后的临床应用价值进行评价。

**结果与结论:** 30例健康对照测定结果为(348.63±69.12) µg/L。移植前可溶性细胞间黏附分子1与对照组无显著性差别; 移植后, 各组与对照组之间比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 急性排斥反应时血清可溶性细胞间黏附分子1升高, 并发感染时降低, 但各组之间比较无明显差别。表明可溶性细胞间黏附分子1生物素-链亲和素系统是一种新型的高灵敏度、宽范围的非放射性标记免疫分析法, 对肺移植受者移植前后监测血清可溶性细胞间黏附分子1可作为辅助诊断急性排斥反应的免疫学指标。

**关键词:** 可溶性细胞间黏附分子1; 时间分辨免疫荧光分析法; 生物素; 链亲和素; 双位点多层夹心法; 肺移植

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.53.004

张笛, 虞竞峰, 肖华龙. 肺移植前后可溶性细胞间黏附分子1的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(53):9897-9901. [<http://www.criter.org> <http://en.zglckf.com>]

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine,

<sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine, Wuxi People's Hospital, Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China

Zhang Di, Chief physician, Department of Internal Medicine, Wuxi People's Hospital, Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China  
gxh913@163.com

Correspondence to: Xiao Hua-long, Chief technician, Associate professor, Master's supervisor, Department of Laboratory Medicine, Wuxi People's Hospital, Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China

Supported by: the Open Subjects for Key Laboratory of Nuclear Medicine, Ministry of Public Health, No. WK005-021\*

Received:2010-06-01  
Accepted:2010-08-16

### 0 引言

可溶性细胞间黏附分子1(soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)是血清中与细胞表面细胞间黏附分子1同型的蛋白分子, 通过检测血清中的sICAM-1可以间接地反映其在组织中的表达水平<sup>[1-2]</sup>。sICAM-1在患炎症、免疫疾病时均有升高, 它是疾病进展的标志, 也是疾病诊断及监测时有价值的指标<sup>[3-5]</sup>。近年来的研究发现, ICAM-1在器官移植免疫反应中发挥重要作用, 是诊断排斥反应灵敏的指标, 体液sICAM-1的监测对排斥反应的

鉴别诊断有重要参考价值, 同时应用ICAM-1单克隆抗体进行排斥反应治疗的研究也已取得一定的成果<sup>[6-7]</sup>。

但是, 目前国内临幊上多采用进口酶联免疫吸附分析试剂盒测定sICAM-1, 此法成本较高。因此, 积极探索特异性强、稳定性好、灵敏度高的检测方法具有重要的实用价值。生物素(Biotin, B)-链亲和素(Streptavidin, SA)系统(BSA)由于具有高的亲和力以及多级放大作用<sup>[8]</sup>。而时间分辨荧光免疫分析(time-resolved fluorimunoassay, TRFIA)具有超灵敏度, 简便快速, 自动化程度高等优点<sup>[9]</sup>。本实验引入BSA至TRFIA中, 采用双位点多层夹心法<sup>[10]</sup>,

南京医科大学附属无锡市人民医院,<sup>1</sup>内科,<sup>2</sup>医学检验科,江苏省无锡市 214023

张笛,男,1959年生,江苏省无锡市人,汉族,1982年南通医学院临床医疗系毕业,主任医师,主要从事移植排斥反应及抗排斥反应治疗方面的研究,gxh913@163.com

通讯作者:肖华龙,主任技师,副教授,硕士生导师,南京医科大学附属无锡市人民医院医学检验科,江苏省无锡市214023,xhl0510@163.com

中图分类号:R617  
文献标识码:A  
文章编号:1673-8225  
(2010)53-0989-05

收稿日期:2010-06-01  
修回日期:2010-08-16  
(2010)53-0989-05

建立了一种新型的高灵敏度、宽范围、非放射标记的 sICAM-1 生物素-链亲和素系统时间分辨免疫荧光分析法(sICAM-1 BSA-TRFIA),通过监测 sICAM-1 在肺移植受者手术前后的变化,以探讨其参与调节免疫排斥反应的可能机制,为早期诊断和鉴别诊断急性排斥反应提供参考依据。

## 1 对象和方法

**设计:** 方法学建立、回顾性病例分析。

**单位:** 2006-01/2008-12 南京医科大学附属无锡市人民医院内科完成。

**对象:** 纳入南京医科大学附属无锡市人民医院健康体检者 30 例设为对照组,其中男 19 例,女 11 例,年龄 20~78 岁,平均 57.9 岁。

**入选标准:** 无急慢性器官性疾病及内分泌代谢等疾病。同种异体肺移植受者共 26 例,其中男 23 例,女 3 例,年龄(24~71)岁,平均 52.8 岁。26 例患者中,13 例为慢性阻塞性肺疾病,10 例为特发性肺间质纤维化,2 例为支气管扩张,1 例为肺结核。

**入选标准:** 首次接受肺移植手术的患者。受者原发病均为临床确诊,符合相应的诊断标准<sup>[11-13]</sup>。本实验经过了南京医科大学附属无锡人民医院器官移植伦理委员会批准,并向所有有参加实验的患者详细说明风险并签署书面同意书后实行。

### 主要试剂、仪器及来源:

主要仪器、试剂	来源
Sephadex G-50 和 PD-10 柱	美国 Pharmacia
T2000 时间分辨荧光检测仪	上海新波公司
酶标仪 EVOLIS	美国 BioRad 公司
紫外分光光度仪 Lambda-S	美国 Perkin-Elmer 公司
sICAM-1 标准品、sICAM-1 ELISA 试剂盒、包被抗体、标记抗体	美国 BioSource 公司
N-羟琥珀酰亚氨活化生物素(NHSB)、链亲和素(SA)、Eu <sup>3+</sup> -N2-[p-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸(Eu <sup>3+</sup> -DTTA)	美国 Perkin-Elmer-Wallac 公司
96 孔可拆式微孔板条	厦门新创公司
发光增强液、洗涤液	江苏省原子医学研究所
其余试剂均为国产分析纯	

## 方法:

**移植前后患者的干预措施:** 患者移植后采用环孢素 A、霉酚酸醋及糖皮质激素预防急性排斥

反应,移植中予以达利珠单抗诱导治疗。环孢素 A 于肺移植前开始口服,移植后环孢素 A 的用量根据血环孢素 A 浓度调整剂量,术后 1~3 d 给予甲泼尼龙,第 4 天起改为泼尼松口服,并逐渐减量。

### sICAM-1 BSA-TRFIA 方法的建立<sup>[14]</sup>:

**生物素化 ICAM-1 单抗的制备:** 取 100 μg/100 μL 标记抗体 20 μL 溶解于 0.2 mL NaHCO<sub>3</sub> 缓冲液中,加入经二甲基甲酰胺溶解的 NHSB 50 μL (20 g/L),室温反应 4 h 后,进行预经 0.9% NaCl 的 50 mmol/L Tris-HCl(pH 7.8)缓冲液平衡过的 Sephadex G-50 柱层析(1 cm×40 cm),紫外 A280 检测收集洗脱蛋白质峰。加等量 AR 级甘油,分装放-20 ℃保存。

**ICAM-1 包被板(固相抗体)的制备:** ICAM-1 包被抗体用 50 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub> (pH 9.6)的缓冲液稀释至 5 mg/L,在 96 孔微孔板上每孔加入 100 μL,4 ℃过夜后冲洗 3 次。加 3 g/L 的小牛血清 100 μL/孔封闭过夜。洗涤后抽干冷冻保存。

**铕标记物的制备:** 参照 Eu<sup>3+</sup>标记盒说明书操作。取 SA 1 mg 经 PD-10 柱转换,洗脱液为含 0.155 mol/L NaCl, 50 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub> (pH 8.5)的缓冲液。加入含 0.2 mg 的 Eu<sup>3+</sup>-N2-[p-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸(Eu<sup>3+</sup>-DTTA)冻干粉的小瓶中,30 ℃磁力搅拌反应 20 h。反应液经用 80 mmol/L Tris-HCl(pH 7.8)缓冲液平衡的 Sepharose CL-6B 柱(1 cm×40 cm)层析, A280 监测收集蛋白峰,加等量 AR 级甘油,分装放-20 ℃保存。

**方法学评估:** ①用 TNF-α、IL-8、IL-1、IL-2 和 IL-6 标准品替代 sICAM-1 标准品,测定其特异性。②对照组血清分别加入一定量的胆红素标准及脂肪溶液,测定溶血及脂血血清对该方法的影响。③在已知低浓度血清中加入高、中、低(100, 200, 500, 1 000 μg/L)的 sICAM-1 标准,测量其浓度值计算方法的回收率。④低、中、高 3 份混合血清样品,分装并保存在-20 ℃。混合血样,随样品测定,分别计算其变异系数 CV(%)评价方法的精密度及重复性。⑤分别用 TRFIA 和 ELISA 两种方法所测血清样品比较两种方法的相关性。

**标本来源及检测:** 26 例患者于移植前 1 d、移植后 1 周静脉采集血样,对照组常规空腹采集静脉血样,在 2 h 内离心,血清置-20 ℃保存至检测。采用 sICAM-1 BSA-TRFIA 法,操作步骤、质量控制按试剂盒说明书进行<sup>[3]</sup>。在

包被有ICAM-1包被抗体的微孔板上每孔分别加入20  $\mu\text{L}$  参考标准血清、质控血清或待测血清样品, 每孔各加入80  $\mu\text{L}$  反应缓冲液和经反应缓冲液稀释的生物素化ICAM-1单抗50  $\mu\text{L}$ (0.2 mg/L), 25  $^{\circ}\text{C}$ 振荡保温1 h, 吸干孔中液体, 用洗涤液洗涤4次。每孔加150  $\mu\text{L}$  0.5 mg/L SA-Eu<sup>3+</sup>, 25  $^{\circ}\text{C}$ 振荡保温15 min。吸干液体用洗涤液洗涤4次。每孔加发光增强液200  $\mu\text{L}$ , 25  $^{\circ}\text{C}$ 振荡反应5 min。检测荧光强度。

**移植后急性排斥反应和肺部感染的诊断及分组:** 根据临床表现及体征、影像学检查、实验室检查以及激素、抗炎治疗效果并结合病原学检查综合判断, 必要时进行活组织病理学检查, 根据检查结果将26例患者分为3组, 稳定组( $n=16$ )、肺感染组( $n=6$ )和急性排斥反应组( $n=4$ )。

**主要观察指标:** sICAM-1 BSA-TRFIA方法学的各项考核指标及肺移植术前后血清sICAM-1临床检测结果。

**设计、实施、评估者:** 设计、评估为通讯作者, 实施为第一作者和第二作者, 均经过系统培训。

**统计学分析:** 检验结果由第二作者采用华西医科大学PEMS 3.1统计软件包统计处理, 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用秩和检验和配对t检验方法进行显著性检验。

## 2 结果

**2.1 sICAM-1 标准曲线测定** 将各标准浓度相应的荧光值减去零标准的荧光值, 与相应标准sICAM-1浓度值作图, 则可得到一条直线, 其回归方程为 $Y=704.67X+51805$ ,  $R=0.9918$ , 见图1。

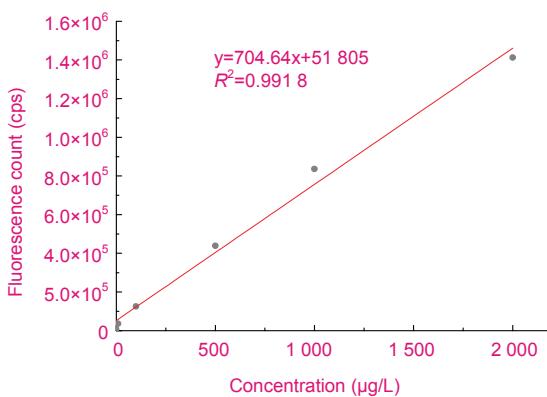


Figure 1 Determination of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) standard curve

图1 sICAM-1 标准曲线测定

**2.2 各项指标的检测结果** 本法线性范围为1.25~1 000  $\mu\text{g/L}$ , 以能够和零标准相分辨的最小测定值作为检测限, 以0浓度 $\pm 2s$ 表示, 本法检测灵敏度为1.32  $\mu\text{g/L}$ 。特异性试验反应曲线呈低水平直线, 测定值均小于2  $\mu\text{g/L}$ , 未见明显交叉反应。溶血、脂肪血其测定结果

未见明显改变, 血清基质成分对该方法无明显影响。回收率R分别为101.26, 100.74, 97.80和99.67%, 平均回收率为99.87%。批内变异(CV)分别为5.85%, 2.84%和4.03%, 平均为4.24%。批间变异(CV)分别为10.06%, 4.22%和6.21%, 平均为6.83%。32例血清样品, 分别用TRFIA和ELISA两种方法所测结果的相关系数为0.939。两种方法高度相关, 见图2。

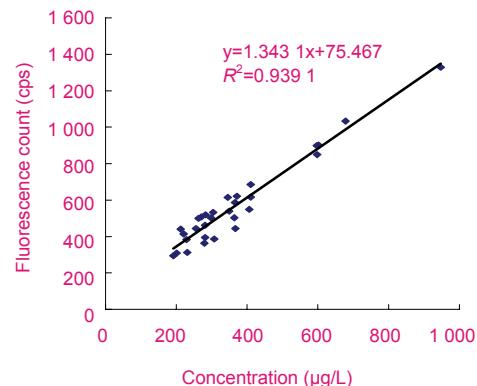


Figure 2 Correlation of TRFIA and ELISA measure results  
图2 TRFIA 和 ELISA 两种方法所测结果的相关度

## 2.3 血清样品测定结果

**与对照组比较:** 移植前后各组秩和检验差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 但各组间比较差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); 移植前肺感染组、急性排斥反应组sICAM-1测定结果均数升高; 移植后稳定组、肺感染组降低, 急性排斥反应组升高。稳定组、肺感染组秩和检验降低, 急性排斥反应组明显升高, 差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。

**与移植前比较:** 移植后秩和检验稳定组、肺感染组降低( $P < 0.05$ ), 急性排斥反应组升高, 但差别不显著。见表1。

表1 肺移植受者手术前后血清sICAM-1的变化情况  
Table 1 Changes of serum soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) before and after lung transplantation  
( $\bar{x}\pm s$ )

Group	n	Before transplantation	After transplantation
Control	30	348.63 $\pm$ 69.12	
Stable	16	357.07 $\pm$ 220.7	274.23 $\pm$ 157.53 <sup>ab</sup>
Acute rejection	4	396.18 $\pm$ 136.25 <sup>a</sup>	455.53 $\pm$ 126.51 <sup>a</sup>
Infection	6	468.95 $\pm$ 85.48 <sup>a</sup>	146.43 $\pm$ 327.11 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. control group; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs. before transplantation

## 3 讨论

TRFIA是在荧光免疫技术基础上发展起来的一种新型非放射性配基结合分析法<sup>[14-15]</sup>, 是目前较为理想的一种超微量生物活性物质定量检测技术。作者应用稀土

离子  $\text{Eu}^{3+}$  标记链亲和素(SA- $\text{Eu}^{3+}$ )作为示踪物并与生物素化的检测抗体特异结合, 以微孔板吸附生物素化抗体为载体, 利用生物素与亲合素之间亲合力高的特性建立双位点多层夹心法 sICAM-1-BSA-TRFIA 法。该方法特异性强, 灵敏度高, 线性良好, 与肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素 8、白细胞介素 1、白细胞介素 2 和白细胞介素 6 无明显交叉反应。溶血、脂血对该方法无明显影响<sup>[16]</sup>。精密度符合临床检测要求, 具有良好的重复性(批内和批间 CV 分别为 2.6% 和 3.5%), 符合文献关于免疫诊断试剂的要求<sup>[17]</sup>。

血清中 sICAM-1 水平在 200~1 000  $\mu\text{g/L}$  之间, 而 ELISA 的工作曲线范围仅为 0~10  $\mu\text{g/L}$ , 反应时间为 3 h, 样品需要稀释, 为测量带来很多的不便, 本实验建立的方法工作曲线范围可达 0~2 000  $\mu\text{g/L}$ , 样品直接用于测定, 减少了操作步骤和预稀释, 缩短了操作时间仅需 1.5 h, 方法更加简便, 其结果更加直观可靠。

肺移植已在实验成功的基础上发展成为治疗终末期肺病的惟一有效方法。国内许多肺移植手术虽然成功, 但患者仍无法渡过围手术期, 失败的原因主要是忽视了对原发性移植肺功能丧失的认识, 对感染与排斥的诊断及治疗经验不足<sup>[18~20]</sup>。

急性排斥反应是导致术后早期死亡的重要原因<sup>[21]</sup>。急性排斥反应发生时, 大量的淋巴细胞、单核细胞黏附于血管内皮, 随后通过血管壁浸润到移植物, 进而破坏移植物微血管、实质和间质的过程。已有研究证明, 细胞黏附分子能够活化血管内皮细胞, 促进淋巴细胞及单核细胞黏附于血管内皮, 继而使其通过血管壁迁移浸润于移植物<sup>[22]</sup>。细胞因子的研究可能对缺血再灌注损伤、感染、排异、原发性移植肺功能衰竭复杂的病理生理过程有所帮助。事实上在临床肺移植工作中, 细胞因子的检测已成为协助诊断和治疗的重要工具<sup>[23~25]</sup>。

已证实, ICAM-1 在排斥反应中可大量表达, 并随排斥反应的好转而降低。Rizzo 等<sup>[26]</sup>对肺移植后发生排斥反应患者的支气管肺泡灌洗液进行免疫学分析, 发现排斥反应与 ICAM-1 及炎症因子的高表达相关。因此, 对组织中的 ICAM-1 或血清中 sICAM-1 进行测定, 有助于移植术后急性排斥反应的诊断及抗排斥反应疗效的评价<sup>[27]</sup>。

肺移植的感染普遍存在且与排斥难以区分<sup>[28~29]</sup>。sICAM-1 在急性排斥反应临床症状出现前 1~3 d 即可升高<sup>[30~31]</sup>。本组 4 例在术后 1 周内发生急性排斥反应, 均经病理诊断证实, 本组 6 例术后发生肺部感染, 其中 5 例经痰培养发现明确致病菌, 另 1 例经支气管肺活组织检查提示有纤维细胞增生, 炎症细胞增多, 后经咽拭子证实巨细胞病毒(CMV)阳性, 血 CMV-IgM 抗体阳性。

本组病例显示, 在肺移植受者血清 sICAM-1 术后

均有明显不同程度改变。各组之间变化差异无显著性意义, 但与对照组比较变化明显( $P < 0.05$ ); 移植稳定组、肺感染组呈降低态势, 而急性排斥反应组呈升高表现。

移植前后各组之间的变化表现为, 移植稳定组降低且差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 急性排斥反应组升高但差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。糖皮质激素可抑制 ICAM-1 的产生, 从而使其表达减少。在本实验中的肺移植受者术后均采用了免疫治疗方案, 因而血清中的 sICAM-1 水平较术前均有所降低, 而急性排斥反应组降低不明显随后反而升高, 表明 sICAM-1 的确参与了排斥反应的发生。移植肺感染组血清 sICAM-1 降到一个很低的水平, 是否预示其免疫功能抑制过多而引起肺部的感染尚有待于进一步研究探讨。

在急性排斥反应时, ICAM-1 表达增高, 并随排斥反应治疗的好转而降低, 虽然免疫抑制药物的应用已很大程度降低了急性排斥反应发生率, 但是免疫抑制药物的使用会产生许多毒副作用<sup>[32]</sup>。通过对 ICAM-1 作用及其机制的研究, 可选择性使用干扰相应的黏附分子表达或封闭黏附分子的手段, 达到抑制移植排斥反应的目的。为进一步探讨排斥反应的预测、治疗提供新的思路。

#### 4 参考文献

- [1] Li X, Gao XW, Ren B, Guoqi Yanke Zazhi. 2006,6(5):1130-1132. 李霞,高霞唯,任兵. ICAM-1与角膜移植排斥反应的研究进展[J]. 国际眼科杂志,2006,6(5):1130-1132.
- [2] Song HZ, He Q. Sichuan Yixue. 2006;27(8):790-792. 宋红转,何庆. ICAM-1在急性肺损伤中的作用[J]. 四川医学,2006,27(8):790-792.
- [3] Ines J, Laudes, Ren FG, et al. Disturbed homeostasis of lung intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 during sepsis. American Journal of Pathology. 2004; 164(4):1435-1445.
- [4] Orfanos SE, Mavrommatti I, Korovesi I, et al. Pulmonary endothelium in acute lung injury :from basic science to the critically ill. Intensive Care Med. 2004;30(9):1702-1171.
- [5] Cheng XS, Xu QY, Ye YQ. Wuhan Daxue Xuebao(Yixueban). 2005; 26(6):730-733. 程真顺,徐启勇,叶燕青. ICAM-1在实验性肺间质纤维化中的表达及盐酸氨基溴索的影响[J]. 武汉大学学报(医学版),2005,26(6):730-733.
- [6] Lou C. Jixue Yixue Jiaoyu. 2003;17(3):32-35. 娄诚. 粘附分子 ICAM-1 在移植免疫中的作用[J]. 继续医学教育,2003,17(3):32-35.
- [7] Guo JQ, Huang YL, Wu WZ, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(5):862-864. 郭君其,黄一亮,吴卫真,等. 细胞间黏附分子 1 与移植肾急性排斥反应[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(5):862-864.
- [8] Zhang XC, Lu YR. Xian dai Yufang Yixue. 2001;28(4):285-286. 张晓春,陆燕蓉. 生物素-亲和素技术的研究进展[J]. 现代预防医学,2001,28(4):285-286.
- [9] Yamada H, Chiba H, Amano M, et al. Rainbow trout eyed—stage embryos demonstrate melatonin rhythms under light-dark conditions as measured by a newly developed time-resolved fluoroimmunoassay. Gen Comp Endocrinol. 2002;125(1):41-46.
- [10] Xiao HL, Huang B, Zhang XF, et al. Zhonghua Heyixue Zazhi. 2008; 28(5):344-346. 肖华龙,黄璐,张晓峰,等. 可溶性细胞间粘附分子-1时间分辨荧光免疫分析法的建立[J]. 中华核医学杂志,2008,28(5):344-346.
- [11] Zhonghua Yixuehui Huxibingxue Fenhu Manxing Zusaixing Fei Jibing Xuezu. Zhonghua Jiehe he Huxi Zazhi. 2002; 2002,25(8): 453-460. 中华医学学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,25(8):453-460.

- [12] Zhonghua Yixuehui Huxibingxue Fenhuixue Feijianzhi Xianweihua Zhenduan he Zhiliao Zhinan.Zhonghua Jiehe he Huxi Zazhi.2002; 2002,25(7):387-389.  
中华医学会呼吸病分会,特发性肺间质纤维化诊断和治疗指南(草案)[J].中华结核和呼吸病杂志,2002,25(7):387-389.
- [13] Zhonghua Yixuehui Huxibingxue Fenhuixue Feijianzhi Xianweihua Zhenduan he Zhiliao Zhinan.Zhonghua Jiehe he Huxi Zazhi.2002; 2002,25(7):387-389.  
中华医学会结核病学分会.肺结核诊断和治疗指南[J].中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70-74.
- [14] Zhang XF, Huang B, Yu JF, et al.Guoji Jianyan Yixue Zazhi. 2009; 30(3):209-211.  
张晓峰,黄飙,虞竟峰, 等.可溶性细胞间黏附分子-1时间分辨免疫荧光分析的方法学评估[J].国际检验医学杂志,2009,30(3):209-211.
- [15] Parra MD, Brnai Lj , Ceron JJ. Cortisol and free thyroxine determination by time-resolved fluorometry in canine serum. Can J Vet Res. 2004;68(2):98-104.
- [16] Parra MD, Vaisanen V, Ceron JJ. Development of a time-resolved fluorometry based immunoassay for the determination of canine haptoglobin in various body fluids. Vet Res. 2005;36(1):117-129.
- [17] Uehara M, Lapcik O, Hampl R, et al.Rapid analysis of phytoestrogens in human urine by time-resolved fluoroimmunoassay. Steroid Biochem Mol Biol. 2000;72(50): 273-282.
- [18] Davenport JM, Schlain B. Testing claimed minimal detectable concentrations of in vitro medical diagnostic devices. J Clin Chemistry. 2000;46(10):1669-1680.
- [19] Wang Y, Ju LH, Chen CL. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008;12(31):6101-6104.  
王艳,琚立华,陈昌乐.免疫抑制剂在器官移植中的应用与安全性评价[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(31):6101-6104.
- [20] Sun ZF, Xu N. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008,12(31):6093-6096.  
孙振峰,许凝.肺移植50年[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008,12(31):6093-6096.
- [21] Chen JY. Zhonghua Qiguan Yizhi Zazhi. 2006;27(2):67.  
陈静瑜.我国肺移植的发展和初步经验[J].中华器官移植杂志,2006, 27(2):67.
- [22] Jiang L, Jiang GN, Ding JA, et al. Zhonghua Waike Zazhi. 2008; 46(7):553-555.  
蒋雷,姜格宁,丁嘉安,等.肺移植后急性排斥反应的临床研究进展[J].中华外科杂志,2008,46(7):553-555.
- [23] Chen GZ, Shen WL, Xia RP, et al. Sichuan Yixue. 2005;26(10): 1060-1061.  
陈耿臻,沈文律,夏仁品,等. ICAM-1在同种大鼠肝移植植物中的表达及其意义[J].四川医学,2005,26(10):1060-1061.
- [24] Jiang P, Tao JJ. Guoji Huxi Zazhi. 2006;26(2):125-128.  
蒋萍,陶家驹.细胞因子与肺移植[J].国际呼吸杂志,2006,26(2): 125-128.
- [25] Chen YL, Qin LX, Zhang RS, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(44):8616-8622.  
陈远林,秦立新,张仁生,等.肾移植亚临床排斥反应患者血清细胞因子水平变化及干预[J].中国组织工程研究与临床康复,2009, 13(44): 8616-8622.
- [26] Zou BJ, Wang ZT, Zhang YL. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009,13(18):3491-3494.  
邹本警,王赞涛,张永利.肾移植排斥反应的相关因子表达[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(18):3491-3494.
- [27] Rizzo M,Sivasai SR,Smith MA,et al.Increased expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules by alveolar macrophages of human lung allograft recipients with acute rejection:decline with resolution of rejection. J Heart Lung Transplant. 2000;19(9):858-865.
- [28] Zhang XG, Lu Y, Wang B, et al. Zhonghua Qiguan Yizhi Zazhi. 2006;27(7):388-391.  
张晓刚,吕毅,王博,等. 大鼠异种心脏移植中P选择素和细胞间粘附分子-1表达的意义[J]. 中华器官移植杂志,2006,27(7):388-391.
- [29] Zhou HM, Shi BY, Zhang XH, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(18):3547-3550.  
周鸿敏,石炳毅,张向华,等.肺移植后真菌感染1例并文献复习[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(18):3547-3550.
- [30] Xiao HL, Qiang XC, Zhang XF, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(21):4066-4069.  
肖华龙,强新晨,张晓峰,等.肺移植受者痰标本细菌培养和药敏试验结果: 12例特点分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007, 11(21):4066-4069.
- [31] Rizzo M,SivaSai KS,Smith MA,et al.Increased expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules by alveolar macrophages of human lung allograft recipients with acute rejection:decline with resolution of rejection.J Heart Lung Transplant. 2000;19(9):858-865.
- [32] Raisky O,Morrison KJ,Obadia JF, et al.Acute rejection and cardiac graft vasculopathy in the absence of donor-derived ICAM-1 or P-selectin.J Heart Lung Transplant. 2001;20(3):340-349.
- [33] Yu HL, Xiao XR. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009,13(31):6109-6112.  
郁亮华,肖序仁.移植免疫耐受的研究现状及进展[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(31):6109-6112.

### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 该课题为 2005 年卫生部核医学重点实验室开放课题(项目编号: WK005-021)主要研究可溶性细胞间粘附分子免疫分析方法的建立及其在临床上的应用。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**课题的创新点:** 应用 BSA-TRFIA 建立的可溶性细胞间黏附分子 1 测定法, 是一种敏感度高, 可测范围广的很好的检测方法, 可以方便地应用于临床, 为相关疾病的诊断和监测提供一项良好的实验诊断指标。正常人血清中可溶性细胞间黏附分子 1 水平为 100~200  $\mu\text{g/L}$ , 相对分子质量约为 80 000, 表达于正常血管内皮细胞、淋巴细胞及恶性肿瘤细胞。细胞因子如白细胞介素 2、肿瘤坏死因子、 $\gamma$ -干扰素, 可促进血管内皮细胞及某些组织上皮细胞表达细胞表面细胞间黏附分子 1 分子。对组织中的细胞表面细胞间黏附分子 1 或血清中可溶性细胞间黏附分子 1 进行测定, 有助于移植术后急性排斥反应的诊断及抗排斥反应疗效的评价。

**课题评估“金标准”:** 可溶性细胞间黏附分子 1 BSA-TRFIA 方法学的各项考核指标及肺移植术前后血清可溶性细胞间黏附分子 1 临床检测结果。

**临床借鉴的价值:** 通过对细胞表面细胞间黏附分子 1 作用及其机制的研究, 提示通过抑制其作用而抑制排斥反应, 如应用细胞表面细胞间黏附分子 1 抗体、一些小分子多肽抑制排斥反应, 为进一步探讨排斥反应的预测、治疗提供新的思路。