

①

FTY720 与 ICAM-1 单抗对小鼠-大鼠 异种心脏移植抗排斥的作用

熊海波¹, 黄祖发¹, 叶启发¹, 夏穗生²

(1. 中南大学湘雅三医院器官移植研究院, 长沙 410013;

2. 华中科技大学同济医学院器官移植研究所, 武汉 430030)

[摘要] 目的: 研究 FTY720 与 ICAM-1 单抗(mAb) 对小鼠-大鼠异种心脏移植的抗排斥作用。方法: 采用小鼠-大鼠腹部心脏移植, 观察移植心存活时间、病理检查、CD4 和 CD8 细胞的浸润程度及检测血中 IL-2, IFN- γ , IL-4 以及 IgM 抗体水平。结果: 对照组移植心平均存活时间为 (2.75 ± 0.43) d。单用 ICAM-1 mAb 组移植心存活时间无明显延长, 单用 FTY720 大剂量组移植心平均存活 (4.25 ± 0.71) d ($P < 0.01$); FTY720 与 ICAM-1 mAb 大剂量联合用药组移植心存活时间平均 (10.25 ± 2.12) d ($P < 0.01$)。联合用药组的病理反应、T 细胞浸润及 IL-2, IFN- γ , IgM 水平明显减轻或降低; IgM 水平与移植物存活时间呈负相关 ($R = -0.754, P < 0.01$)。结论: FTY720 与 ICAM-1 mAb 单一用药对异种移植的抗排斥作用不明显, 联合用药可有效延长异种心脏移植的存活时间并能抑制异种抗体的产生。

[关键词] FTY720; ICAM-1 mAb; 异种移植; 急性血管性排斥反应; 小鼠; 大鼠

[中图分类号] R392.4 [文献标识码] A [文章编号] 1672-7347(2007)01-0041-06

Effect of mono and combination therapy with FTY720 and ICAM-1 mAb for mouse-to-rat cardiac xenotransplantation

XIONG Hai-bo¹, HUANG Zu-fa¹, YE Qi-fa¹, XIA Sui-sheng²

(1. Institute of Transplantation, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013; 2. Institute of Transplantation, Tongji Hospital, Huazhong Science and Technological University, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of FTY720 and ICAM-1 mAb mono and combination therapy in mouse-to-rat cardiac xenotransplantation. **Methods** Cardiac xenotransplantation was performed in abdominal site with micro-surgical technique. Recipients with xenografts were treated with different doses of FTY720 and/or ICAM-1 mAb. Graft survival, histopathology, infiltration of CD4⁺, and CD8⁺ T cells and levels of serum IL-2, IFN- γ , IL-4, and IgM were investigated. **Results** Survival time of xenografts was (2.75 ± 0.43) d in the controls, survival of grafts treated with ICAM-1 mAb did not significantly improve. Treatment with large dose FTY720 led to a survival of (4.25 ± 0.71) d ($P < 0.01$). Combination therapy with large dose FTY720 and ICAM-1 mAb achieved a significant prolongation of graft survival with (10.25 ± 2.12) d ($P < 0.01$). Levels of serum IL-2, IFN- γ and rat-anti-mouse IgM decreased in the combined therapy group. Pathologic lesion and infiltration of T cells in xenografts showed mitigated in the large dose combined therapy group. There was a significant negative correlation between the antibody level and the graft survival time ($R = -0.754, P < 0.01$). **Conclusion** The combined therapy of FTY720 and ICAM-1 mAb can achieve a significant effect in the prolongation of heart xenograft survival and inhibition of

①收稿日期 (Date of reception) 2006-03-01

作者简介 (Biography) 熊海波 (1963-), 男, 陕西凤县人, 副教授, 博士, 主要从事器官移植研究。

通讯作者 (Corresponding author) 熊海波, E-mail: haiboxiong@sohu.com

xenoantibodies.

Key words: FTY720; ICAM-1 mAb; xenotransplantation; acute vascular rejection; mice; rat

[*J Cent South Univ (Med Sci)*, 2007, 32(1):0041-06]

小鼠-大鼠心脏移植属于协调性异种移植,主要发生急性血管性排斥(acute vascular rejection, AVR)。AVR是由T细胞介导的细胞免疫及抗体依赖的体液免疫共同引起^[1-2]。1-磷酸-鞘氨醇受体拮抗剂(sphingosine-1-phosphate receptor agonist, FTY720)可选择性减少外周淋巴细胞和移植中的细胞毒性T细胞(CTL)的数量;细胞间黏附分子-1/淋巴细胞功能抗原-1(intercellular adhesion molecular-1/lymphocyte function-associated antigen-1, ICAM-1)单抗可选择性与细胞表面的ICAM-1分子结合,抑制细胞间粘附分子-1/淋巴细胞功能抗原-1(ICAM-1/LFA-1)的共刺激信号。本文观察了联合用药对小鼠-大鼠异种心脏移植的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物与器材 雌性 Balb/c 小鼠,体质量 20~30 g;雌性 Wistar 大鼠,体质量 200~250 g,由中南大学实验动物中心提供。手术显微镜(GX-SS.22-3)系上海医用光学仪器厂生产;550型酶标仪系伯乐生命医学产品(上海)有限公司出品。

1.1.2 药品及试剂 FTY720由Novartis Ltd.提供,ICAM-1 mAb由Boehringer Ingelheim公司提供。血清IL-2,IFN- γ ,IL-4检测试剂盒系北京中山生物技术有限公司产品;CD4,CD8细胞免疫组化试剂盒系美国博士德公司产品;小鼠抗大鼠IgM单抗(Clone MARM-4)与辣根过氧化物酶标记小鼠抗大鼠IgMk单抗(Clone MARK-1)系美国Biosource公司产品,大鼠骨髓瘤IgMk(Clone IR473)系美国Serotec公司产品,过氧化物酶底物系美国Sigma公司产品;麻醉剂用10%水合氯醛2.5~3.5 mL/kg腹腔注射。

1.2 方法

1.2.1 腹部心脏移植手术方法 Balb/c小鼠作为供体,Wistar大鼠作为受体,以改进的方法行腹部心脏移植^[3]。

1.2.2 实验分组 将异种腹部心脏移植模型分为7组,每组8只大鼠,手术当日开始用FTY720 1次/日,灌胃;ICAM-1 mAb腹腔注射1次/日,疗程直至移植心被排斥,剂量如下。

Group 1: 对照组 Balb/c-Wistar; Group 2: FTY720 1 mg/(kg·d); Group 3: FTY720 3 mg/(kg·d); Group 4: ICAM-1 mAb 1 mg/(kg·d); Group 5: ICAM-1 mAb 2 mg/(kg·d); Group 6: FTY720 1 mg/(kg·d) + ICAM-1 mAb 2 mg/(kg·d); Group 7: FTY720 3 mg/(kg·d) + ICAM-1 mAb 2 mg/(kg·d)。

1.2.3 观察方法 每日触摸大鼠腹部,心脏停跳为移植心被排斥,从移植心复跳到停跳之间的时间为移植心存活时间。

1.2.4 标本的留取 对移植心停跳的大鼠,从下腔静脉抽血,静置,离心2 000 r/min,取血清,置-70℃深低温冰箱保存备用;同时用无菌手术器械取移植心,分数份,一部分用10%甲醛固定,另一部分置-70℃深低温冰箱保存备用。

1.2.5 大鼠血清IgM的检测 于术后第1,3,5,7,10,12 d及移植心停跳时,剪尾取血0.5 mL,制备血清0.25 mL,置-70℃超低温冰箱保存至检测。检测步骤如下:(1)10 μ g/mL小鼠抗大鼠IgM单抗包被96孔板,每孔100 μ L,置4℃碳酸盐缓冲液中过夜。(2)0.1% PBS液洗96孔板,共3次。(3)37℃下用含5%脱脂牛奶的PBS液封闭2 h,每孔200 μ L。(4)重复第2步。(5)每孔加大鼠血清及标准品100 μ L,每份样本重复两份。大鼠IgMk标准品浓度分别为2 500, 625, 156.3, 39.1, 9.8, 2.4, 0.6, 0 ng/mL,大鼠血清样本稀释度为1/25 000和1/50 000。37℃孵育2 h。(6)重复第2步。(7)每孔加入500 ng/mL辣根过氧化物酶标记的小鼠抗大鼠IgMk链单抗100 μ L,37℃孵育2 h。(8)重复第2步。(9)重复第2步。(10)每孔加入荧光抗体200 μ L,96孔板常温暗处孵育30 min。(11)读取OD₄₅₀值,并通过标准曲线计算相应浓度。

1.2.6 免疫组化ABC法检测移植心组织内

CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞的浸润 (1) 取制备好的冰冻切片,小心吸去组织周围水分,滴加新鲜配制的 3% H₂O₂,室温静置 10 min 以灭活内源性酶,蒸馏水洗 3 次。(2) 滴加正常血清封闭液,室温静置 20 min,甩去多余液体,不洗。(3) 滴加相应一抗(兔 IgG),将切片置湿盒内 4℃ 冰箱过夜, PBS 洗 3 次,每次 5 min。(4) 滴加生物素化山羊抗兔 IgG,25℃ 30 分钟, PBS 洗 3 次,每次 5 min。(5) 滴加试剂 SABC,25℃ 30 分钟, PBS 洗 4 次,每次 5 min。(6) 取 1 mL 蒸馏水,加 DAB 显色试剂盒(ED1022)中 A, B, C 试剂各一滴,混匀后加至切片,室温显色 5 min,蒸馏水洗涤。(7) 苏木素轻度复染 10 s。无水酒精脱水 1~2 min,丙酮透明 1~2 min,封片。在 400 倍光镜下随机取 10 个视野,记录阳性细胞个数。

1.2.7 用 ABC-ELISA 法测定大鼠血清中 IL-2, IFN- γ 及 IL-4 的含量 (1) 不同浓度标准品的配制:设标准孔 8 孔,每孔中各加入样品稀释液 100 μ L,第 1 孔加标准品 100 μ L,混匀后用加样器吸出 100 μ L,移至第 2 孔,如此反复作对倍稀释至第 7 孔,从第 7 孔中吸出 100 μ L 弃去,使之体积均为 100 μ L,第 8 孔为空白对照。浓度分别为 1 000,500,250,125,62.5,32,16,0 pg/mL。(2) 样品孔中每孔加入大鼠血清 100 μ L。封好反应板,置 37℃ 120 min。(3) 用洗涤液洗板 6 次。(4) 每孔中加入第一抗体工作液 50 μ L,将反应板充分混匀后置 37℃ 60 min。(5) 用洗涤液洗板 6 次。(6) 每孔加酶标抗体工作液 100 μ L,将反应

板置 37℃ 60 min。(7) 洗板:同前。(8) 每孔加入底物(OPD)工作液 100 μ L,置 37℃ 暗处反应 5~10 min。每孔加入 1 滴终止液混匀。(9) 在 492 nm 处测吸光值。(10) 通过标准曲线测定大鼠血清中 IL-2, IFN- γ 及 IL-4 含量(pg/mL)。

1.2.8 病理学检查 取停搏心脏,固定,切片, HE 染色,光镜观察病理变化。异种急性血管性排斥表现为:心肌细胞肿胀,坏死,间质出血,水肿,单核细胞浸润,血管内皮破裂,血管内血栓形成,纤维素沉积。

1.3 统计学处理 用 SPSS13.0 软件对实验数据进行处理,各组移植心生存时间用 Kaplan-Meier 方法分析;血清细胞因子水平, CD4, CD8 细胞计数用方差分析;移植物存活时间与 IgM 抗体水平之间用回归分析。 $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 移植心存活时间 对照组异种移植心平均存活(2.75 \pm 0.43) d,单一用药组 2,4,5 不能延长移植心存活时间,单一用药组 3 则可有限延长移植心的存活(4.25 \pm 0.71) d($P < 0.01$);联合用药组 6,7 移植心存活时间明显长于单一用药组及对照组($P < 0.01$),联合用药组 7 能有效延长异种移植心的存活达(10.25 \pm 2.12) d,也明显长于组 3,6 ($P < 0.01$)(表 1,图 1)。

表 1 移植心存活时间(d)

组别	处理	n	存活时间($\bar{x} \pm s$)
组 1	对照	8	3,3,3,2,3,3,2,3 (2.75 \pm 0.43)
组 2	FTY720 1 mg	8	3,3,2,4,4,3,3,3 (3.13 \pm 0.64)
组 3	FTY720 3 mg	8	3,4,4,5,5,5,4,4 (4.25 \pm 0.71) **
组 4	ICAM-1mAb 1 mg	8	4,3,2,3,3,3,2,3 (2.88 \pm 0.64)
组 5	ICAM-1mAb 2 mg	8	3,4,4,3,3,3,2,3 (3.13 \pm 0.64)
组 6	FTY720 1mg + ICAM-1mAb 2 mg	8	7,5,6,7,7,8,5,6 (6.38 \pm 1.06) ***##
组 7	FTY720 3mg + ICAM-1mAb 2 mg	8	10,11,12,8,7,12,13,9 (10.25 \pm 2.12) ***##▲

与组 1 比较, ** $P < 0.01$;与组 3 比较,## $P < 0.01$;与组 6 比较,▲ $P < 0.01$

2.2 移植心的病理学检查 对照组和单一用药组 2,3,4,5 其移植心均呈明显的急性血管性排斥反应:严重的间质出血,水肿;血管内皮细胞层破裂,血管内血栓形成,心肌细胞弥漫性坏死并伴有单核细胞浸润(图 2)。联合用药组 6,7 排斥反应程度相对较轻,主要表现为局灶性心肌细胞坏死伴有纤维素沉淀及小血管内血栓形成(图 3)。

2.3 移植心组织内 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞的浸润 组 1,2,3,4,5,6 其移植心组织内均有较明显的 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞的浸润,以 CD4⁺ T 细胞为多;组 7 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞的浸润与以上各组比较相对较轻($P < 0.05$)(图 4~6)。

2.4 血清细胞因子水平 在移植心被排斥时,各组血清 IL-4 均保持在较低水平,而 IL-2 和 IFN-

γ 维持在较高水平,组 7 血清 IL-2 和 IFN- γ 水平明显低于组 1,2,3,4,5,6($P < 0.01$) (图 7)。

2.5 血清 IgM 水平 移植后 1~3 d,大鼠抗小鼠的 IgM 维持在较高水平,随着移植心存活时间的延长,IgM 水平逐渐下降(图 8);血清 IgM 水平

与移植心存活时间呈负相关,线性(Linear)相关系数 $RL = -0.754 (P < 0.01)$,生长(Growth)相关系数 $RG = -0.801 (P < 0.01)$,回归方程分别为:
 $\hat{Y} = -9.662X + 167.531$; $\ln(\hat{Y}) = -0.093X + 5.176$ (图 9)。

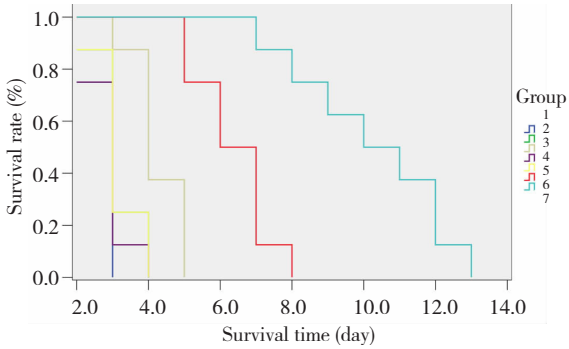


图 1 小鼠-大鼠移植心存活曲线
Fig. 1 Survival rate of mice-to-rat cardiac xenografts

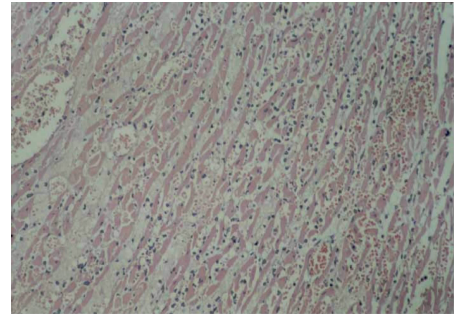


图 2 急性血管性排斥反应(HE × 200)
Fig. 2 Acute vascular rejection in Group 2(HE × 200)

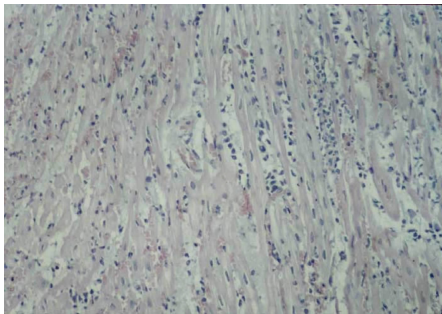


图 3 急性血管性排斥反应(HE × 200)
Fig. 3 Acute vascular rejection in Group 6(HE × 200)

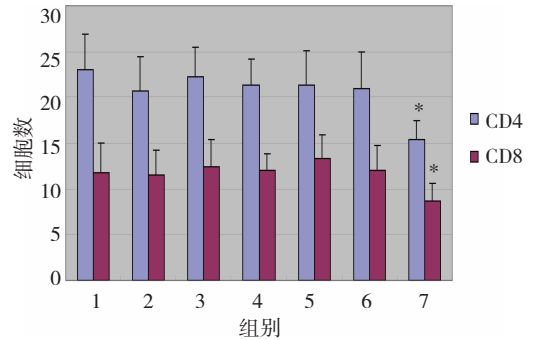


图 4 移植心组织 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞 与组 1,2,3,4,5,6 比较, * $P < 0.05$
Fig. 4 CD4⁺, CD8⁺ T cells in heart xenografts Compared with Group 1,2,3,4,5,6, * $P < 0.05$

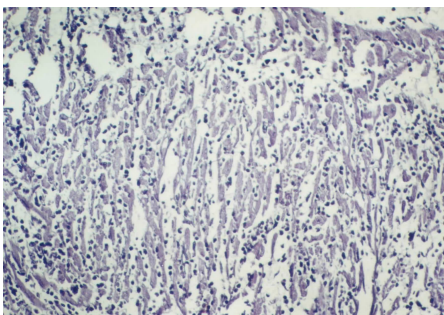


图 5 移植心组织内 CD4⁺ T 细胞的浸润
Fig. 5 Infiltration of CD4⁺ T cell in heart xenograft

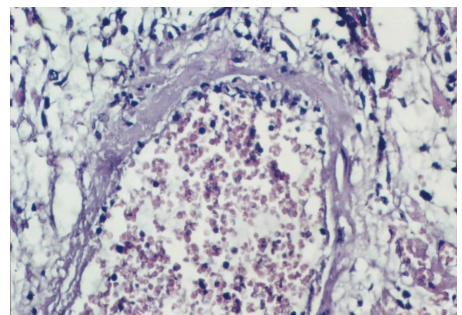


图 6 移植心组织内 CD8⁺ T 细胞的浸润
Fig. 6 Infiltration of CD8⁺ T cell in heart xenograft

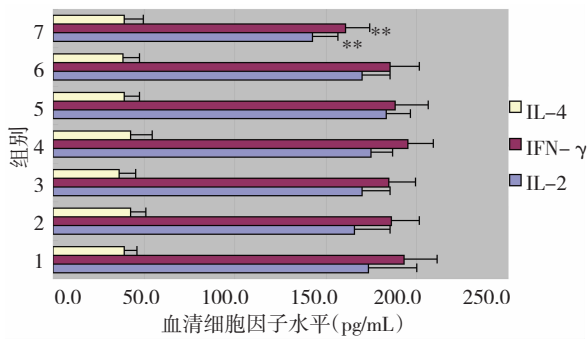


图7 血清细胞因子水平 与组1,2,3,4,5,6比较, ** $P < 0.01$

Fig. 7 Level of serum cytokines Compared with Group 1,2,3,4, 5,6, ** $P < 0.01$

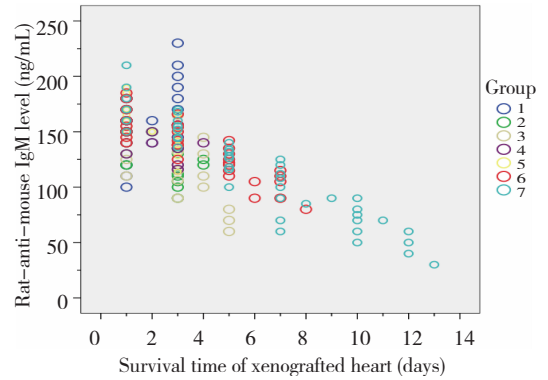


图8 移植后不同时间大鼠抗小鼠 IgM 水平

Fig. 8 Level of rat-anti-mouse IgM after transplantation

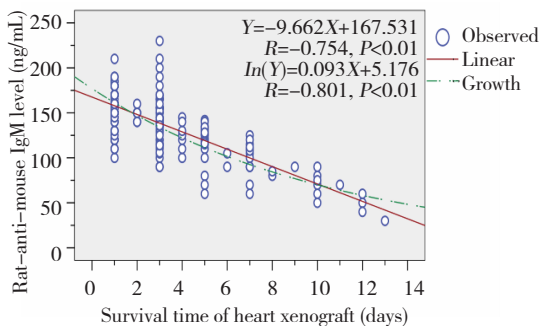


图9 大鼠抗小鼠 IgM 水平与移植心存活时间的关系

Fig. 9 Correlation between level of rat-anti-mouse IgM and survival time of heart xenograft

3 讨 论

异种移植分为非协调性异种移植 (discordant xenotransplantation) 和协调性异种移植 (concordant xenotransplantation), 前者首先发生超急性排斥反应 (hyperacute rejection, HAR), 后者不发生 HAR 而直接发生 AVR。AVR 既有非特异性免疫因素如补体, NK 细胞等参与, 又有 T 细胞免疫和异种抗体发挥作用^[1-2]。

FTY720 是从冬虫夏草中提炼的制剂, 化学结构为: 2-amino-2-[2-(4-octylphenyl)]-1,3-propanediol hydrochloride。该药是 1-磷酸-鞘氨醇 (sphingosine-1-phosphate, S1P) G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs) 选择性、非竞争性抑制剂^[4-5], 通过 S1P1, 2, 5 细胞内摄和部分胞内降解阻断 S1P 信号, 但不影响 S1P3 和 S1P4, 可选择性减少外周循环淋巴细胞数及移植植物中 CTL 的浸润^[6-8]。其可能的机制有: 诱导淋巴细胞凋亡, 这种凋亡不依赖于 Fas-FasL 途径; 通过对细胞黏附

分子如选择素、整合素、趋化因子等的调节促进循环淋巴细胞向周围淋巴器官转移; 抑制 T 细胞从胸腺向外周血的转移; 减少效应 T 细胞从淋巴结向外周血的再循环, 从而减少 T 细胞对移植器官的浸润。同时 FTY720 与其它免疫抑制剂不同的是: 不损害宿主的免疫应答及免疫记忆功能。另一方面 FTY720 通过改变淋巴细胞归向及调节 ICAM-1 的表达, 阻断移植植物内皮细胞和受者血循环中粒细胞的作用, 减轻血管内皮的损伤及缺血-再灌注损伤, 增强抗排斥的效果。有研究表明 FTY720 与 CsA, rapamycin, FK506 联合应用有协同作用^[9]。

ICAM-1 是一种单链跨膜糖蛋白, 属于黏附分子免疫球蛋白超家族成员, 其配体为淋巴细胞功能相关抗原 (LFA-1, CD11a/CD18)。ICAM-1/LFA-1 分子对参与介导 T-T, T-B, T-APC/靶细胞的黏附, 作为共刺激分子参与 T 细胞的活化, 同时具有促进粒细胞与靶细胞结合, 增强炎症反应的作用。抗 ICAM-1 单抗可阻断 ICAM-1 与其配体的结合, 从而抑制 T 细胞的活化、抑制效应细胞与靶细胞间的相互作用及炎症反应, 发挥抗排斥效果^[10-12]。联合应用 FTY720 与 ICAM-1 单抗在大鼠同种异体心脏移植中有协同的抗排斥效果^[13]。

本实验发现, ICAM-1 mAb 在低剂量及大剂量下均不能延长移植心的存活; 而 FTY720 在低剂量亦不能延长移植心的存活, 但在大剂量下可有限延长至 4.25 d。当用 FTY720 的低剂量或大剂量与 ICAM-1 mAb 的大剂量联合应用时, 则使移植心存活分别延长至 6.38 d 和 10.1 d, 获得了明显的抗排斥效果。从两种药物的作用机制看, FTY720

通过调节 T 细胞归向减少 T 细胞对移植物的浸润, ICAM-1 mAb 则阻断 T 细胞活化的共刺激信号, 阻止 T 细胞的活化, 抑制效应细胞与靶细胞间的相互作用, 同时 FTY720 可减少 ICAM-1 的表达, 减轻血管内皮的损伤和移植物的炎症反应, 从不同途径上抑制由异种抗体及活化 T 细胞介导的排斥反应。根据移植各组的病理表现和 T 细胞浸润的结果, 发现将 Balb/c 小鼠心移植于 Wistar 大鼠体内, 无论用免疫抑制剂与否, 其病理均表现为急性血管性排斥反应: 内皮损伤, 血管内血栓形成, 间质出血以及纤维素沉积等; 而且有明显的 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的浸润, 但以 CD4⁺ T 细胞为主。联合用药组 7 其移植心排斥反应程度及 CD4⁺, CD8⁺ T 细胞的浸润均较轻, 说明 AVR 有 T 细胞参与, 联合用药有明显的抑制炎症反应的效果。通过对各组血中细胞因子水平的检测, 发现发生 AVR 时, IL-2 和 IFN- γ 均保持在较高水平, 而 IL-4 处于较低水平, 联合用药组 7 其 IL-2 和 IFN- γ 水平有一定程度的降低, 表明 AVR 发生时, 随着异种 T 细胞的激活, 产生 IL-2 和 IFN- γ 等效应细胞因子, 单一用药不足以对抗这一过程, FTY720 和 ICAM-1 mAb 联合用药可从多个环节抑制 T 细胞的激活和效应细胞因子的产生, 增强抗 AVR 的效果。根据移植后不同时间 IgM 的动态变化, 发现移植后即有大鼠抗小鼠的抗体产生并维持在较高水平, 随着移植心存活时间的延长, 抗体水平趋于下降, 即异种抗体水平与移植心存活时间呈负相关, 说明 FTY720 和 ICAM-1 mAb 能够抑制异种抗体的产生, 联合用药有更强的抑制效果。总之, 协调性异种移植发生的急性血管性排斥反应有体液免疫和细胞免疫共同参与, FTY720 和 ICAM-1 mAb 单一用药对异种移植的抗排斥作用不明显, 联合用药可有效延长异种心脏移植的存活时间并能抑制异种抗体的产生。

参考文献:

- [1] Brouard S, Sebille F, Vanhove B, et al. T cell repertoire alterations in allograft and xenograft rejection processes [J]. *Transplant Proc*, 2000, 32(5): 924-925.
- [2] Hosiawa KA, Wang H, DeVries ME, et al. Regulation of B- and T-cell mediated xenogeneic transplant rejection by interleukin 12 [J]. *Transplantation*, 2006, 81(2): 265-272.
- [3] 熊海波, 温浩. 小鼠-大鼠颈部及腹部异种心脏移植模型的建立及比较 [J]. *新疆医学*, 2003, 33(3): 1-3.
XIONG Hai-bo, WEN Hao. Comparison and establishment of the model of mouse-to-rat heart xenotransplantation in cervical and abdominal site [J]. *Xinjiang Med J*, 2003, 33(3): 1-3.
- [4] Matloubian M, Lo CG, Cinamon Q, et al. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1 [J]. *Nature*, 2004, 427(6972): 355-360.
- [5] Graler MH, Goetz EJ. The immunosuppressant FTY720 down-regulates sphingosine 1-phosphate G-protein-coupled receptors [J]. *FASEB J*, 2004, 18(3): 551-553.
- [6] Kimura T, Hasegawa T, Nakai H, et al. FTY720 reduces T-cell recruitment into murine intestinal allograft and prevents activation of graft-infiltrating cells [J]. *Transplantation*, 2003, 75(9): 1469-1474.
- [7] Chiba K, Hoshino Y, Ohtsuki M, et al. Immunosuppressive activity of FTY720, sphingosine 1-phosphate receptor agonist: I. Prevention of allograft rejection in rats and dogs by FTY720 and FTY720-phosphate [J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(1): 102-106.
- [8] Pinschewer D D, Ochsenbein A F, Odermatt B, et al. FTY720 immunosuppression impairs effector T-cell peripheral homing without affecting induction, expansion, and memory [J]. *J Immunol*, 2000, 164(11): 5761-5770.
- [9] Hoshino Y, Yanagawa Y, Ohtsuki M, et al. FTY720, a novel immunosuppressant, shows a synergistic effect in combination with FK506 in rat allograft models [J]. *Transplant Proc*, 1999, 31(1-2): 1224-1226.
- [10] Grochowicki T, Gotoh M, Dono K, et al. Induction of unresponsiveness to islet xenograft by MMC treatment of graft and blockage of LFA-1/ICAM-1 pathway [J]. *Transplantation*, 2000, 69(8): 1567-1571.
- [11] Isobe M, Yagita H, Okumura K, et al. Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1 [J]. *Science*, 1992, 255(5048): 1125-1127.
- [12] Pietersz GA, Sandrin MS, Ling S, et al. LFA-1 and ICAM-1 antibody-idarubicin conjugates separately prolong murine cardiac allograft survival [J]. *Transpl Immunol*, 2001, 9(1): 7-11.
- [13] XIONG Hai-bo, HUANG Zu-fa, XIA Sui-sheng, et al. Effect of FTY720 and ICAM-1 mAb mono and combination therapy in cardiac allotransplantation in rats [J]. *J Cent South Univ Technol*, 2005, 12(suppl 1): 343-346.

(本文编辑 陈丽文)