

· 论著 ·

肝移植急性肺损伤患者围手术期血清细胞因子的比较蛋白组学分析

郭娜 黑子清 庞红宇

【摘要】 目的 分析肝移植围手术期急性肺损伤(ALI)的细胞因子表达特点,以期筛选肝移植 ALI 的早期标志物和早期治疗靶点奠定基础。方法 乙型肝炎肝硬化行同种异体原位肝移植术后发生 ALI 男性患者 4 例,术前无肺、肾、脑等重要脏器异常,术中尿量、出血量、腹水量、血制品输入量、手术时间、无肝期时间及血管活性药物用量、利尿药使用情况及循环情况等差异无统计学意义。采集麻醉后、新肝 3 h、新肝 24 h 的血清,利用 RayBio[®] 人抗体芯片试剂盒分析细胞因子的表达特点。结果 与健康者比较,肝移植 ALI 患者在麻醉后就已有部分细胞因子表达增强,包括白细胞介素(IL-3、IL-6、IL-12 p40、IL-12 p70)、单核细胞趋化蛋白 2(MCP-2)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、 γ -干扰素诱导单核因子(MIG)、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)、可溶性肿瘤坏死因子受体 I (sTNFR I),其中尤以 sTNFR II 表达上调的幅度大,正常 T 细胞表达和分泌因子(RANTES)、血小板衍化生长因子-BB(PDGF-BB)表达明显下调。在新肝 3 h 时表达上调的细胞因子种类有所增加,其中尤以 IL-12 p70、sTNFR I、sTNFR II 表达上调的幅度较大;RANTES、PDGF-BB、IL-1 α 表达明显下调。在新肝 24 h 时表达上调的细胞因子种类和程度大幅增加。与新肝 3 h 相比,新肝 24 h 嗜酸粒细胞选择性趋化因子(eotaxin)、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-4、IL-15、MCP-2 表达明显上调,IL-3、IL-6 表达上调的幅度大,IL-2 表达上调幅度最大。结论 在麻醉后、新肝 3 h、新肝 24 h 分别有不同的炎症因子表达减弱或增强,且表达增强的幅度不同,某些因子的变化可能是重要的早期标志物和治疗靶点,提示需要进行大样本研究。

【关键词】 肝移植; 肺损伤,急性; 细胞因子; 蛋白组学

The comparative proteomic analysis of serum cytokine expression in acute lung injury patients in peri-operative stage of liver transplantation GUO Na, HEI Zi-qing, PANG Hong-yu. *The Anesthesia Department of the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong, China*
Corresponding author: HEI Zi-qing, Email: heiziqing@sina.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the characteristics of serum cytokine expression in acute lung injury (ALI) patients in peri-operative stage of liver transplantation with the aim of setting the basis for screening the early markers and treatment targets of ALI. **Methods** Four male patients with ALI occurring in peri-operative stage of liver transplantation for hepatitis B liver cirrhosis, with no lung, renal, or brain abnormality, without difference in clinical findings (urine volume, blood loss, ascites, amount of blood transfusion, operation time, anhepatic time, the use of vaso-active drugs, diuretics and condition of circulation) were included for study. Blood was taken after anesthesia, 3 hours and 24 hours after new liver. RayBio[®] human antibody array was used to analyze the cytokine expression. **Results** Compared with healthy people, in the patients with ALI in peri-operative stage of liver transplantation, upregulation of some cytokines appeared as early as after anesthesia, including interleukins (IL-3, IL-6, IL-12 p40, IL-12 p70), monocyte chemoattractant protein-2 (MCP-2), macrophage-colony stimulating factor (M-CSF), monokine induced by interferon- γ (MIG), macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α), soluble tumor necrosis factor receptor I (sTNFR I), especially sTNFR II which showed even stronger expression, while normal T cells expression and secretory factor (RANTES) and platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) showed downregulation in expression. Some more cytokines showed upregulation in expression at neohepatic 3 hours, especially IL-12 p70, sTNFR I, sTNFR I showed upregulation, while RANTES, PDGF-BB and IL-1 α showed downregulation in expression. The number of cytokines showing upregulation was significantly increased at neohepatic 24 hours. Compared with those at neohepatic 3 hours, eotaxin, IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-15, MCP-2 showed significantly higher upregulation at neohepatic 24 hours, and among them IL-3 and IL-6 especially IL-2 showed even more upregulation in expression. **Conclusion** There are changes in expression of different kinds of cytokines in various extent before operation, at neohepatic 3 hours and neohepatic 24 hours. Some of them may be considered as important early markers and treatment targets. Further researches with large samples would be necessary to elucidate the clinical implication.

【Key words】 liver transplantation; acute lung injury; cytokine; comparative proteomic

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.02.004

基金项目:广东省自然科学基金(7001567);教育部博士点基金(200805580072)

作者单位:510630 广东广州,中山大学附属第三医院麻醉科 通信作者:黑子清,Email:heiziqing@sina.com

原位肝移植(OLT)患者术后早期肺部并发症的比例很高,其中急性肺损伤(ALI)又是与肝移植患者术后死亡相关的主要并发症,炎症反应在 ALI 中起到了重要作用。有研究报道,在分析血清或肺泡灌洗液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-6 和 IL-8)水平后,证明炎症反应是导致肝移植术后 ALI 的重要机制^[1]。由于细胞因子种类繁多,单纯研究数种细胞因子并不能完全反映肝移植 ALI 患者所有细胞因子的变化规律。本研究中拟利用 RayBio[®] 人抗体芯片分析肝移植围手术期 ALI 的细胞因子表达特点,以期筛选肝移植 ALI 的早期标志物和早期治疗靶点奠定基础。

1 资料与方法

1.1 病例资料:本试验在中国临床试验注册中心的注册号为 ChiCTR - PNR - 00000043,入选的患者及健康对照者术前均签署知情同意书。选择乙型肝炎(乙肝)肝硬化并进行同种异体 OLT 术后发生 ALI 患者 4 例,ALI 诊断符合文献^[2]标准,均为男性,年龄 30~50 岁,术前无肺、肾、脑等重要脏器异常,术中尿量、出血量、腹水量、血制品输入量、手术时间、无肝期时间及血管活性药物用量、利尿药使用情况 & 循环情况等差异无统计学意义。1 例健康对照者为 33 岁健康男性志愿者。

1.2 麻醉方法:麻醉前肌肉注射(肌注)苯巴比妥和阿托品。患者入手术室后面罩吸氧,常规监测心电图、无创动脉血压及脉搏血氧饱和度,建立静脉通路。用咪唑安定、异丙酚、维库溴铵和芬太尼联合诱导麻醉,气管插管后行机械通气;呼气末二氧化碳分压(P_{ET}CO₂)维持在 35~45 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa);行右锁骨下静脉穿刺,置入双腔管,用于输血、补液及给药;行右颈内静脉穿刺,置于 Swan-Ganz 漂浮导管,连接连续心排量监测仪,吸入七氟醚维持麻醉,维库溴铵维持肌松,术中酌情追

加芬太尼。使用液体加温器和充气式加温毯实行全身加温,维持体温在 36~37 °C。手术各期持续泵入多巴胺以利于肾功能保护。

1.3 检测指标及方法:分别于患者麻醉后(术前)、新肝 3 h、新肝 24 h 从右锁骨下静脉置管取血,制备血清标本,经 BCA 蛋白质定量试剂盒进行蛋白定量,按照 RayBio[®] 人抗体芯片试剂盒操作流程进行封闭和孵育、检测、图像采集,分析细胞因子的表达特点,并与健康者比较。

1.4 统计学分析:X 线胶片曝光后,将胶片上的图像用扫描仪扫描,用 ScanAlyze 软件转化为数字型数据(原始数据),然后减去 Blank 值做修正,并用 POS 做标准化,进行比较分析。

2 结果

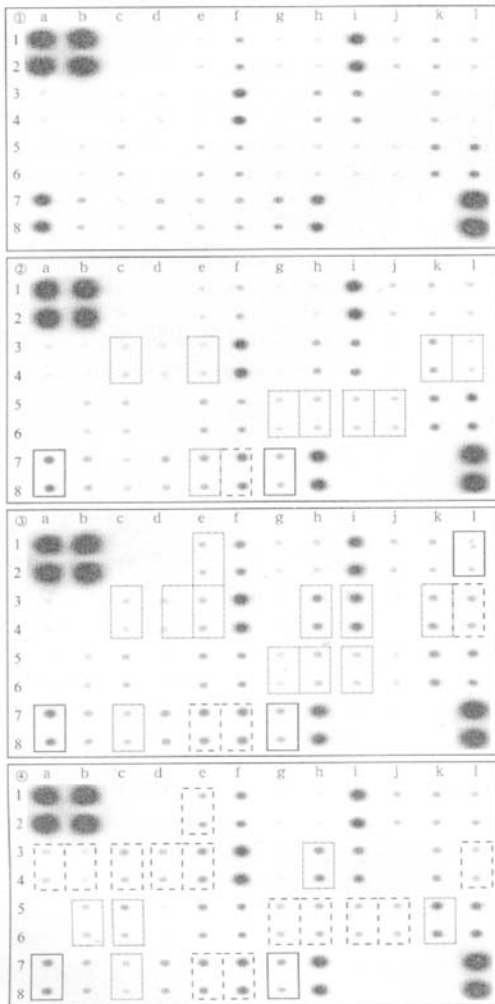
2.1 RayBio[®] 人抗体芯片的 40 个细胞因子分布情况(表 1);每个细胞因子重复检测两遍,并设阳性对照、阴性对照和空白对照组。

2.2 健康者及肝移植围手术期发生 ALI 患者的血清细胞因子检测结果(图 1):与健康者比较,麻醉后肝移植 ALI 患者 RANTES、PDGF-BB 表达明显下调,而细胞因子 IL-3、IL-6、IL-12 p40、IL-12 p70、MCP-2、M-CSF、MIG、MIP-1 α 、sTNFR I 表达明显上调,尤以 sTNFR II 表达上调的幅度大。新肝 3 h 肝移植 ALI 患者 RANTES、PDGF-BB、IL-1 α 表达明显下调,而细胞因子 eotaxin、IL-3、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12 p40、MCP-2、M-CSF、MIG、TNF- α 表达明显上调,尤以 IL-12 p70、sTNFR I、sTNFR II 表达上调的幅度大。新肝 24 h 肝移植 ALI 患者 RANTES、PDGF-BB 表达明显下调,而细胞因子 IL-8、IL-15、IL-16、MIP-1 β 、TNF- α 表达明显上调,尤以 eotaxin、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-12 p70、MCP-2、M-CSF、MIG、MIP-1 α 、sTNFR I、sTNFR II 表达上调的幅度大。

表 1 RayBio[®] 人抗体芯片的 40 个细胞因子分布情况

8 行	RayBio [®] 人抗体芯片的 12 列											
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
raw 1,2	Pos	Pos	Neg	Neg	eotaxin	eotaxin-2	GCSF	GM-CSF	ICAM-1	IFN- γ	I-309	IL-1 α
raw 3,4	IL-1 β	IL-2	IL-3	IL-4	IL-6	IL-6sR	IL-7	IL-8	IL-10	IL-11	IL-12 p40	IL-12 p70
raw 5,6	IL-13	IL-15	IL-16	IL-17	IP-10	MCP-1	MCP-2	M-CSF	MIG	MIP-1 α	MIP-1 β	MIP-1 δ
raw 7,8	RANTES	TGF- β 1	TNF- α	TNF- β	sTNFR I	sTNFR II	PDGF-BB	TIMP-2	Blank	Blank	Neg	Pos

注:Pos:阳性对照,Neg:阴性对照;eotaxin:嗜酸粒细胞选择性趋化因子,GCSF:粒细胞集落刺激因子,GM-CSF:粒-巨噬细胞集落刺激因子,ICAM-1:细胞间黏附分子-1,IFN- γ : γ -干扰素,I-309:过敏性 C-C 化学激活受体 R8 的配体,IL-6sR:白细胞介素-6 可溶性受体 α ,IP-10: γ -干扰素诱导蛋白-10,MCP-1:单核细胞趋化蛋白 1,M-CSF:巨噬细胞集落刺激因子,MIG: γ -干扰素诱导单核因子,MIP-1 α :巨噬细胞炎症蛋白-1 α ,RANTES:正常 T 细胞表达和分泌因子,TGF- β 1:转化生长因子- β 1,sTNFR I:可溶性肿瘤坏死因子受体 I,PDGF-BB:血小板衍化生长因子-BB,TIMP-2:金属蛋白酶组织抑制因子 2,Blank:空白对照

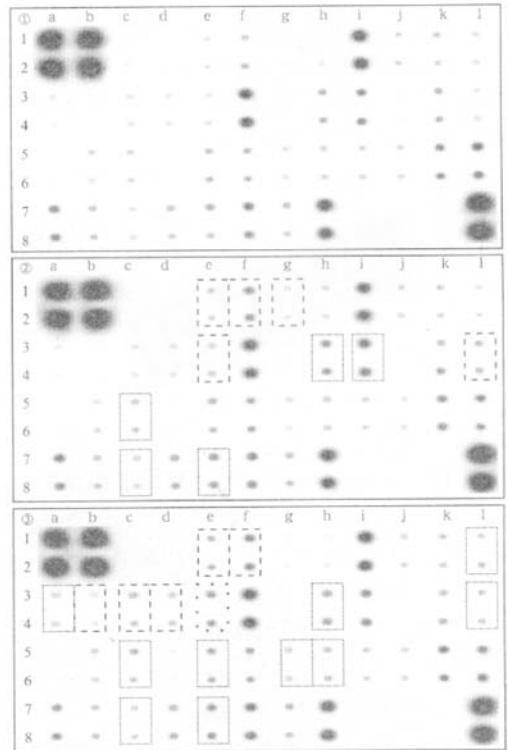


①:健康者;②麻醉后(术前);③新肝 3 h;④新肝 24 h;
□框为下调, ▨框为上调, ◻框为显著上调

图 1 RayBio® 抗体芯片检测肝移植围手术期

ALI 患者各时期与健康者血清细胞因子变化的比较

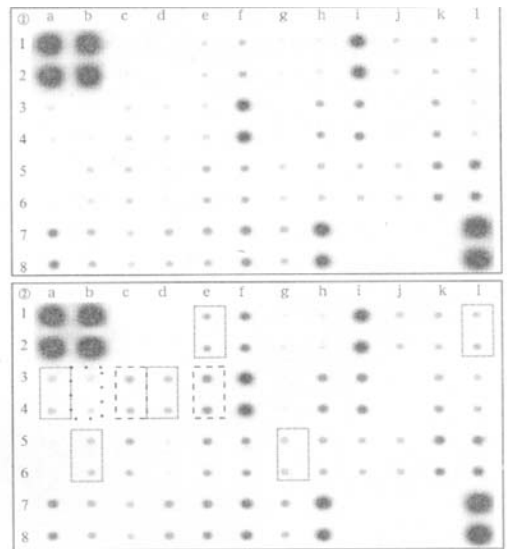
2.3 肝移植 ALI 患者不同时期血清细胞因子比较
(图 2~3);新肝 3 h 与麻醉后相比细胞因子 IL-8、IL-10、IL-16、TNF- α 、sTNFR I 表达明显上调, eotaxin、eotaxin-2、GCSF、IL-6、IL-12 p70 表达上调的幅度大。新肝 24 h 与麻醉后相比细胞因子 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-8、IL-12 p70、IL-16、IP-10、MCP-2、M-CSF、TNF- α 、sTNFR I 表达明显上调, eotaxin、eotaxin-2、IL-2、IL-3、IL-4 表达上调的幅度大, IL-6 表达上调的幅度最大。新肝 24 h 与新肝 3 h 相比细胞因子 eotaxin、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-4、IL-15、MCP-2 表达明显上调, IL-3、IL-6 表达上调的幅度大, IL-2 表达上调的幅度最大。



①麻醉后;②新肝 3 h;③新肝 24 h; □框为下调,

▨框为上调, ◻框为显著上调, ◻框为上调幅度最大

图 2 肝移植围手术期 ALI 患者新肝 3 h、24 h 与麻醉后细胞因子表达变化的比较



①新肝 3 h;②新肝 24 h; □框为上调,

▨框为显著上调, ◻框为上调幅度最大

图 3 肝移植围手术期 ALI 患者新肝 24 h 与新肝 3 h 细胞因子表达变化的比较

3 讨论

目前关于肝移植围手术期 ALI 的诊断仍主要依据术后的血气分析、X 线胸片结果和临床症状,防治仍处于被动状态,往往是等到 ALI 出现时才采取相应的措施,其结果是相当部分肝移植患者因此死亡或治疗病程延长和费用增加。成功的早期预测、早期诊断对后期有针对性的治疗可起到事半功倍的效果。刘淳等^[3]研究发现肝移植术前测定氧自由基相关指标可用于对高危的患者进行筛选,以提高肝移植总体成活率。

ALI 的基本病理生理改变是肺泡上皮和肺毛细血管内皮通透性增高所致肺间质弥漫性液体渗出,影响气体交换^[4]。目前观点多认为炎症细胞被激活释放炎症因子,引起的肺部炎症反应是主要的机制^[5]。我们以往研究已证实 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 等水平的增高与 ALI 的发生呈正相关^[1]。本研究显示,通过与健康者比较,肝移植 ALI 患者术前就已有部分细胞因子表达增强,其中尤以 sTNFR II 表达增强的幅度大;在新肝 3 h 时表达增强的细胞因子种类有所增加,新肝 24 h 时种类和程度则大幅增加。有少量炎症因子表达较新肝 3 h 增强。这些结果提示肝移植 ALI 患者术前细胞因子表达增加,启动了炎症反应,经历肝移植手术不同时期,参与细胞反应的细胞因子种类增多,表达程度加强,呈现出复杂的网络特点。在这些细胞因子中,我们发现肝移植 ALI 患者 TNF- α 和 ILs 簇细胞因子在围手术期增高,新肝期表达较术前明显上调,是参与肺损伤的主要细胞因子,这些结果与我们采用酶联免疫吸附法检测的研究结果^[1]相符。

虽 MCP-2、M-CSF、MIG、MIP-1 α 、sTNFR I、sTNFR II 和 IL-12 p40、IL-12 p70 在各期均有上调,但上调幅度有意义的炎症因子是 sTNFR I、sTNFR II、IL-12 p40 和 IL-12 p70,呈递增趋势。许多研究显示这些炎症因子在炎症反应中发挥着重要的作用^[6-13]。sTNFR I 是 TNF- α 结合的可溶性肿瘤坏死因子受体,与 TNF- α 结合后可启动天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)依赖的细胞凋亡^[14],导致组织损伤。Iglesias 等^[6]发现,sTNFR 水平是预测中毒性休克急性肾功能衰竭(ARF)发展和死亡的独立因素,代表了更广泛的炎症反应。IL-12 p40 特异性表达于巨噬细胞和树突细胞,其表达增强会放大炎症反应,同时使炎症反应由急性转为慢性,使得治疗难度加大;IL-12 p40 还可进一步激活 IL-12 p70 的表达。IL-12 p70 的活化可被 T 细胞来源的信

号所增强^[7],因此放大炎症反应。M-CSF 是在炎症反应中由损伤内皮细胞释放的一种多肽类激素样造血生长因子,它可促进造血祖细胞分化成单核/巨噬细胞,是炎症反应的敏感标志物^[8]。MCP-2 属于趋化因子 CC 家族,可趋化激活多种免疫细胞、炎症细胞,如肥大细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞、单核细胞、T 细胞、自然杀伤(NK)细胞^[9],促使炎症反应网络的形成。MIG 是趋化因子 CXC 亚族的一员,体内主要由 IFN- γ 刺激的巨噬细胞产生,促使激活的 T 细胞趋化^[10]。MIP-1 α 属于趋化因子 CC 家族,在炎症早期可趋化和激活中性粒细胞等炎症细胞,使之大量浸润聚集,从而启动与维持炎症反应^[11]。eotaxin-2 与 eotaxin 同属于趋化因子 CC 家族成员,趋化和激活嗜酸粒细胞,在呼吸系统的炎症反应中起重要作用^[12]。RANTES 为趋化因子 CC 家族成员之一,主要产生于活化的 T 细胞,通过活化的 T 细胞控制免疫细胞定向迁移,向移植体内募集免疫炎症细胞参与排斥反应^[13]。但本研究中却发现,肝移植围手术期发生 ALI 患者的 RANTES 蛋白表达较健康者明显下降,这是否与围手术期应用激素和免疫抑制药物有关尚不明确,还有待进一步研究。PDGF-BB 在维持血管内皮细胞的完整性方面起着重要作用,Lu 等^[15]研究发现,联合应用成纤维细胞生长因子-2(FGF-2)和 PDGF-BB 可改善缺血心肌血管内皮完整。本研究中发现 PDGF-BB 下调,我们推测可能与 Martin 等^[16]观察到的 ALI 早期血管内皮细胞受损,进而导致肺泡-毛细血管膜损伤及血管通透性增加有关,有待进一步证实。

综上所述,本研究中初步探讨了上述 40 个细胞因子在肝移植围手术期 ALI 发生发展中的表达特点,发现在麻醉后和新肝期分别有不同的炎症因子表达减弱或增强,且表达增强的幅度不同,有一些因子变化可能是重要的早期标志物和治疗靶点,提示需要进一步进行大样本的研究。

志谢 感谢中山大学附属第三医院麻醉科各位同事在本课题病例收集工作中的大力支持

参考文献

- [1] 黎尚荣. 肝移植术后急性肺损伤危险因素分析及术中肺部炎症因子变化研究. 广州: 中山大学, 2006.
- [2] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南(2006). 中国危重病急救医学, 2006, 18(12): 706-710.
- [3] 刘淳, 周孝思, 耿秋明. 肝移植术前测定氧自由基相关指标在预后判别中的价值. 中国危重病急救医学, 2003, 15(9): 560-562.
- [4] Wheeler AP, Bernard GR. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: a clinical review. Lancet, 2007,

369(9572):1553-1564.

[5] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000, 342(18):1334-1349.

[6] Iglesias J, Marik PE, Levine JS. Elevated serum levels of the type I and type II receptors for tumor necrosis factor- α as predictive factors for ARF in patients with septic shock. *Am J Kidney Dis*, 2003, 41(1):62-75.

[7] Schulz O, Edwards AD, Schito M, et al. CD40 triggering of heterodimeric IL-12 p70 production by dendritic cells in vivo requires a microbial priming signal. *2000*, 13(4):453-462.

[8] Denizot Y, Karoutsos S, Nathan N. Differential alterations in plasma colony-stimulating factor concentrations after coronary artery bypass graft surgery with extracorporeal circulation. *Cytokine*, 2001, 13(5):314-316.

[9] Gong W, Howard OMZ, Turpin JA, et al. Monocyte chemotactic protein-2 activates CCR5 and blocks CD4/CCR5-mediated HIV-1 entry/replication. *J Biol Chem*, 1998, 273(8):4289-4292.

[10] Wysocki CA, Panoskaltis-Mortari A, Blazar BR, et al. Leukocyte migration and graft-versus-host disease. *Blood*, 2005, 105(11):4191-4199.

[11] Menten P, Wuyts A, Van Damme J. Macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2003, 13(6):455-481.

[12] Komiya A, Nagase H, Yamada H, et al. Concerted expression of eotaxin-1, eotaxin-2, and eotaxin-3 in human bronchial epithelial cells. *Cell Immunol*, 2003, 225(2):91-100.

[13] Maghazachi AA, Al-Aoukaty A, Schall TJ. CC chemokines induce the generation of killer cells from CD56⁺ cells. *Eur J Immunol*, 1996, 26(2):315-319.

[14] Utaisincharoen P, Ubol S, Tangthawornchaikul N, et al. Binding of tumour necrosis factor- α (TNF- α) to TNF-R 1 induces caspase(s)-dependent apoptosis in human cholangiocarcinoma cell lines. *Clin Exp Immunol*, 1999, 116(1):41-47.

[15] Lu H, Xu X, Zhang M, et al. Combinatorial protein therapy of angiogenic and arteriogenic factors remarkably improves collaterogenesis and cardiac function in pigs. *Pron Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(29):12140-12145.

[16] Martin TR, Nakamura M, Matute-Bello G. The role of apoptosis in acute lung injury. *Crit Care Med*, 2003, 31(4 Suppl):S184-188.

(收稿日期:2008-10-14 修回日期:2008-12-15)
(本文编辑:李银平)

• 启事 •

第十三次全国复苏与中毒学术论文交流会征文通知

为了提高我国复苏与中毒救治水平,认真总结交流近几年来在这几方面基础与临床的经验和学术研究成果,经中华医学会批准,急诊医学分会第十三次全国复苏与中毒学术论文交流会定于 2009 年 6 月在湖北省武汉市召开,届时有我国复苏中毒的专家作专题报告介绍这几方面的最新进展,并聘请相关学科的专家作精彩的专题报告。参会者可获得国家级 I 类继续教育学分 8 分,为此现展开征文,内容如下。

征文内容:心肺复苏的基础和临床研究;各种中毒(CO 中毒、药物、农药、有害气体)的救治基础和临床研究;猝死、脑死亡、溺水、触电、中暑等理化急诊;多脏器功能不全、心衰、肝、肾、呼吸衰竭救治;急诊的新技术、新业务及新经验交流;内、外、妇、儿、皮肤及五官急性疾病的诊断处理及救治原则;人工气道、呼吸机的应用;危重病各种监测技术和经验交流;急危重病救治的新技术、新药物及新方法;复苏与中毒中的组织管理及救治体会;复苏、中毒、院前急救、现场救治及转运;急危重病救治护理经验介绍。

征文要求:文章请用稿纸书写或打印,加盖公章或介绍信,来稿一律不退请自留底稿;文章全文 3 000 字以内,并附 300~500 字摘要,同时附电子版。

稿件截止日期:2009 年 5 月 1 日,以邮戳为准。

稿件邮寄地址:北京市朝阳区工人体育场南路 8 号 北京朝阳医院急诊科 邵菲收,邮编:100020;电话:13601332960, Email:yining2000@sina.com。

稿件经审稿会审查录用后将于 2009 年 5 月 31 日前发出参会通知。

(中华医学会急诊医学分会)

第二届全军重症医学研讨会暨第三届全军危重病新进展学习班

最近,国家卫生部已将重症医学列为二级学科,并即将开展执业医师认证工作,规范 ICU 队伍建设。在此形势下,为系统强化当前 ICU 医护人员专业知识和技能训练,全军重症医学专业委员会拟于 2009 年 4 月 1—4 日在湖南长沙举办第二届全军重症医学研讨会暨第三届全军危重病新进展学习班。研讨会将以创伤、休克、感染、MODS、机械通气、CRRT 以及监测与护理等问题为主题(与资格认证考试密切相关),邀请军内外知名学者进行专题讲座,同时还开展基础操作培训。参会人员授予国家级 I 类继续教育学分 8 分。

会议时间:2009 年 4 月 1—4 日,1 日全天报到,4 日撤离。报到地点:湖南长沙华雅国际大酒店(长沙市万家丽中路二段 81 号)。注册费:600 元/人。食宿统一安排,费用自理(餐费会议给与部分补助),请与会代表将“会议回执”以邮寄或传真方式务必于 2009 年 3 月 25 日前寄:北京市朝阳区裕民路 12 号 华展国际公寓 A 座 901 室 赵霖收,邮编 100029;Email:linzi1949@126.com,电话:010-68700268,手机:13810330554。

(全军重症医学专业委员会 解放军总医院第二附属医院)