

热休克预处理诱导人体皮瓣合成 HSP₇₀

Heat-shock pretreatment inducing heat shock protein-70 synthesis in human flaps

吴建明*, 吴包金, 林子豪, 江 华, 刘 麒, 袁湘斌, 赵耀忠

(第二军医大学长征医院整形外科, 上海 200003)

[关键词] 热休克预处理; 皮瓣; 热休克蛋白

[中图分类号] R 622.1 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2005)01-0057-01

研究^[1,2]发现,热休克应激能对皮瓣存活产生积极影响,热休克的保护作用与皮瓣内合成热休克蛋白(heat shock proteins, HSP₇₀)有关。热休克预处理皮瓣能诱导大鼠皮瓣产生具有重要组织保护作用的 HSP₇₀,并能明显提高大鼠背部随意皮瓣存活率,其改善皮瓣存活率的作用与 HSP₇₀的合成量呈正相关关系^[3]。我们在临床上对 3 例背阔肌皮瓣和 5 例腹股沟皮瓣进行热休克预处理,并对皮瓣中的 HSP₇₀合成情况进行免疫组化检测,以期探讨热休克预处理临床应用的可能性。

1 材料和方法

1.1 主要仪器与试剂 红外热疗仪,715 型针型半导体测温计,三用紫外线分析仪,半导体点温计(上海医用仪表厂)。一抗 HSP₇₀单克隆抗体及免疫组化试剂盒均系 DAKO 公司产品。

1.2 皮瓣的处理 背阔肌皮瓣共 3 例,均系游离移植修复缺损创面,设立自身对照,同一背阔肌皮瓣作为实验组,受区设为对照组。腹股沟皮瓣共 5 例,均系腹股沟皮瓣阴茎再造,腹股沟皮瓣则以左侧为实验组皮瓣,右侧为对照组皮瓣。实验组术前进行热休克预处理。热休克预处理方法:实验组用红外热疗仪局部加温升温至皮面温度 42℃ 后,持续 50 min,半导体点温计测温。热应激预处理 8 h 后进行手术,分离皮瓣,在皮瓣转移之前于术中采集实验组标本,部位为皮瓣边缘,切取 0.2 cm×2 cm 大小全层条形皮瓣组织,即刻液氮冻存备测。切取完标本后再将皮瓣转移至受区。对照组标本取自背阔肌皮瓣的受区创皮缘和对照侧(右侧)腹股沟皮瓣边缘,为大小 0.2 cm×2 cm 全层皮肤组织,液氮冻存。

1.3 HSP₇₀免疫组化检测 采用 EnVision 二步法检测对照组及实验组皮瓣组织内 HSP₇₀表达。10 μm 厚连续冰冻切片,丙酮固定 15 min 预处理,微波抗原修复后,双蒸水洗,置于 TBS 液中,滴加 3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,孵育 10 min,蒸馏水漂洗,置于 TBS 10 min,一抗 HSP₇₀单克隆抗体(1:100)孵育 30 min,再用 TBS 漂洗 10 min,而后 EnVision™ 孵育 30 min, TBS 漂洗, DAB 显色,苏木精复染,中性树脂胶封固,镜下观察。阳性对照片由 DAKO 公司提供, TBS 液代替一抗设为阴性对照。阳性结果呈棕褐色。在 400 倍光镜下观察,按视野观察到的染色强度或细胞阳性数确定表达强度。不着色,表达强度即为阴性(-);着色较弱或淡染,每个视野阳性细胞数少于 10 个为弱阳性(±);中度染色,每个视野阳性细胞数 10~30 个为阳性(+);强染色,

着色深,每个视野阳性细胞数>30 个为强阳性(++)。

2 结果和讨论

3 例背阔肌皮瓣和 5 例腹股沟皮瓣热休克预处理侧(实验侧)皮瓣间质组织细胞内均存在较强的 HSP₇₀阳性表达,3 例(+),5 例(++),定位于细胞核,呈棕褐色;对照侧皮瓣除 1 例腹股沟皮瓣呈(±),其余皮瓣均未见 HSP₇₀阳性表达颗粒。术后皮瓣全部成活。

研究表明热休克预处理能够影响皮瓣成活,提高皮瓣耐受完全缺血的能力,而且保护作用的程度与 HSP₇₀密切相关^[4,5]。本研究对 3 例背阔肌皮瓣和 5 例腹股沟皮瓣热休克预处理,自身对比观察发现,8 例皮瓣/肌皮瓣实验侧均有大量 HSP₇₀阳性表达,而对照组皮瓣组织内的 HSP₇₀免疫组化表达均阴性。这一结果提示:热应激预处理人体皮瓣能诱导合成对组织有重要保护意义的 HSP₇₀,为其临床应用提供了在体实验的直接依据。

[参考文献]

- [1] Koenig WJ, Lohner RA, Perdrizet GA, et al. Improving acute skin flap survival through stress conditioning using heat shock and recovery[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1992, 90(4): 659-664.
- [2] Selye H. Ischemic necrosis: prevention by stress[J]. *Science*, 1967, 156(779): 1262-1263.
- [3] 吴建明, 林子豪, 刘 麒, 等. 热应激预处理对皮瓣缺血再灌注损伤的影响及机制[J]. *中华整形烧伤外科杂志*, 1999, 15(5): 351-353.
- [4] Menger MD, Laschke MW, Amon M, et al. Experimental models to study microcirculatory dysfunction in muscle ischemia-reperfusion and osteomyocutaneous flap transfer[J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2003, 388(5): 281-290.
- [5] Al-Qattan MM. Re: Nonsurgical delay of cutaneous flaps using the flash lamp pumped pulsed dye laser[J]. *Ann Plast Surg*, 2000, 45(5): 568.

[收稿日期] 2004-07-15

[修回日期] 2004-10-11

[本文编辑] 孙 岩

[基金项目] 上海市科技发展基金(994119042).

[作者简介] 吴建明(1963-),男(汉族),硕士,副教授、副主任医师,硕士生导师。现在复旦大学附属华山医院整形外科,上海 200040.

* Corresponding author. E-mail: wujianming63@sohu.com