

利用免疫学方法检测脱细胞真皮基质的细胞碎片残留

宁方刚 张国安 金培勇

1 材料与与方法

1.1 试剂及材料

1.1.1 试剂 鼠抗人角蛋白单克隆抗体(简称 CK)、鼠抗波形蛋白单克隆抗体(简称 VIM)和其他免疫组织化学常规试剂,均由北京中山生物技术有限公司提供。

1.1.2 材料 对照材料为新鲜人皮(FHS,由截肢患者自愿捐献)、新鲜猪皮(FSS,本院动物实验室)、新鲜羊皮(FGS,本院动物实验室)和脱细胞不彻底的羊皮基质(GADM-N,本科室),待测材料为戊二醛交联的人脱细胞真皮基质(HADM-G,北京莱亚莱加生物技术有限责任公司)、戊二醛交联的猪脱细胞真皮基质(SADM-G,深圳清华源兴生物医药科技有限公司)、未交联的猪脱细胞真皮基质(SADM,本科室)和未交联的山羊脱细胞真皮基质(GADM,本科室)。每种材料样本数为 5。

1.2 检测方法

所有操作由专业人员按照常规程序及说明书进行。利用 CK 及 VIM 标记对上述材料以二步法行免疫组织化学染色,在光学显微镜(CX41 型,日本 Olympus 公司)下观察,两种标记的染色阳性表达分别为棕色和红色。同时对待测材料行常规病理学检查,与免疫学方法行对比;以透射电镜(EM-2400 型,荷兰 Philips 公司)对待测材料的检查结果作为参照。

2 结果

FHS、FSS、FGS 染色后相关组织均呈强阳性。GADM-N 染色后镜下均可见明显的阳性残留细胞碎片(图 1,2)。

SADM、GADM 和 SADM-G 染色结果呈阴性。HADM-G 的 CK 标记染色呈阴性,但 VIM 标记染色呈阳性(图 3)。这 4 种样本行常规病理学检查并未观察到细胞碎片。透射电镜下未见 SADM、GADM 和 SADM-G 有细胞碎片,但可见

HADM-G 的细胞碎片(图 4),这与免疫组织化学检测结果一致。同种方法对同种材料的每个样本检测结果均一致。

3 讨论

异体脱细胞真皮基质早已应用于临床并取得良好效果,目前对异种脱细胞真皮的研究也取得了一定进展^[1]。评估脱细胞真皮基质质量,了解脱细胞程度是否彻底是重点。以往多采用常规病理学方法检查,但有时难以观察到一些细小的细胞碎片。

CK 可用于标记表皮细胞^[2],VIM 可用于标记成纤维细胞^[3]。本实验所用的免疫组织化学方法检测到 FSS、FGS、FHS 染色结果均呈强阳性,说明猪、羊和人的表皮细胞的角蛋白抗原及成纤维细胞的波形蛋白抗原有很强同源性。此免疫学方法还可以检测到常规病理学检查难以察觉的细胞细小碎片。本实验中 HADM-G 被检测到 VIM 标记染色呈阳性,此现象与电镜检测结果一致。推测成纤维细胞本身免疫原性很低且 HADM-G 对患者而言系同种产品,因此应用时未表现出明显的免疫原性。

本实验介绍的检测脱细胞真皮基质上细胞碎片残留的免疫学方法操作简便,结果可靠,成本较低,值得推广。

参考文献

- 姜笃祉,韩壁,徐明达,等.异种脱细胞真皮基质的制作和临床应用观察.中华烧伤杂志,2002,18(1):15-18.
- Mull R, Franke WW, Schiller DL, et al. The catalog of human cytokeratins; patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell, 1982, 31(1):11-24.
- Gabbiani G, Kapanci Y, Barazzoni P, et al. Immunohistochemical identification of intermediate-sized filaments in human neoplastic cells. A diagnostic aid for the surgical pathologist. Am J Pathol, 1981, 104(3):206-216.

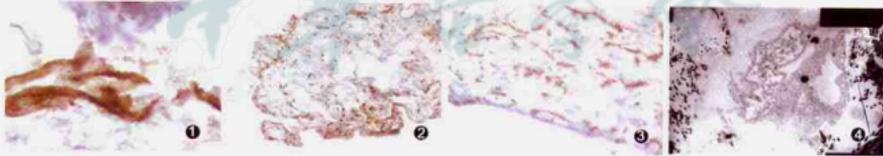


图 1 脱细胞不彻底的羊皮基质染色呈明显阳性的表皮细胞碎片 鼠抗人角蛋白单克隆抗体 $\times 400$ 图 2 脱细胞不彻底的羊皮基质染色呈明显阳性的成纤维细胞碎片 鼠抗波形蛋白单克隆抗体 $\times 100$ 图 3 人脱细胞真皮基质残留染色呈阳性的成纤维细胞碎片 鼠抗波形蛋白单克隆抗体 $\times 200$ 图 4 人脱细胞真皮基质残留的成纤维细胞碎片 透射电镜 $\times 14\ 000$

作者单位:100035 北京,积水潭医院烧伤科(宁方刚,张国安);
泰安市泰山医学院附属医院外科(金培勇)

(收稿日期:2006-04-17)

(本文编辑:赵敏)

通讯作者:张国安,Email:shangga777@126.com,电话:010-

58516361