

# 免疫螢光術的臨床應用

柯敏雄

## 一、前言

如果有人告訴你說，醫師能在紫外光顯微鏡下觀察老鼠的胃或腎，由此而診斷出你得了那種肝病或貧血，或是由觀察猴子的食道而診斷出你得了那種皮膚病。你會半信半疑或是覺得不可思議嗎？

事實上，這只是免疫螢光術（immunofluorescence）在臨床診斷應用上的幾個例子而已。

這種螢光抗體技術並不是什麼新奇難懂的診斷術。你只要稍具備一點基本的免疫學上抗原抗體反應的知識，加

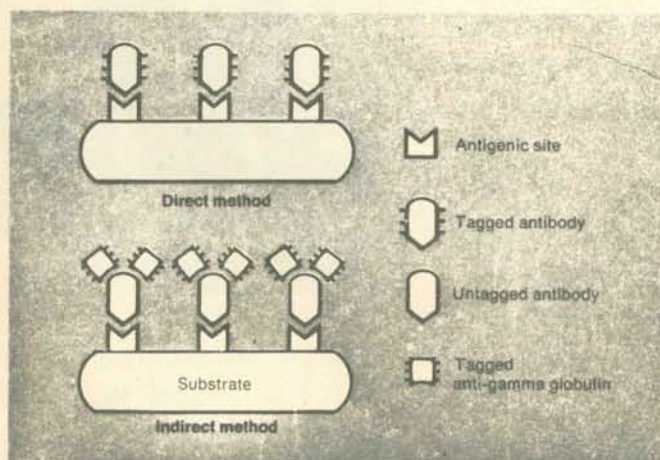
上一些波長、紫外線、螢光等的常識，就不難理解其妙了。

## 二、簡史

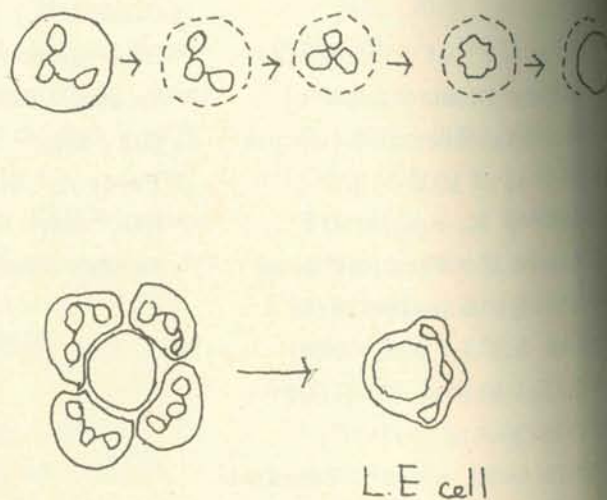
早在1940年代，昆氏（Coons）已發展成功此術。這是人類首次能夠真正看見循環於血液或固定組織內的抗原及抗體間的作用。

經過多年來許多學者不斷的研究與發展，免疫螢光已由純粹的研究進入實驗的臨床應用，成為臨床醫治很多疾病很有幫助及不可或缺的工具。

（圖三至圖八取材自Clinical Lab. Forum Sept.-Oct. 1973）



圖一：直接法與間接法的免疫螢光術



圖二：狼瘡細胞的形式成

### 原理與方法

免疫螢光術有直接與間接 (direct and indirect) 兩種方法。首先簡單地說明一下抗原與抗體的反應。

抗原 (antigen) 是任何能夠在免疫學上稱職的脊椎動物體內引起免疫反應的物質。當它進入動物或人體後，

則刺激抗體 (antibody) 的形成。抗體是一種特殊的血清蛋白，叫做免疫球蛋白 (immunoglobulin)，具有與達到激惹狀態的抗原相結合的能力。

抗體既是一種蛋白，因此，如果把你的抗體抽出，然後注射入動物 (如：兔子) 的體內，那麼你的抗體就成為兔子的抗原。兔子體內就會產生對抗你的抗體的抗體來，這就是所謂的抗人類蛋白抗體 (Antihuman Globulin antibody)。

所謂「螢光抗體」就是利用螢光染料，使其附著於抗體的球蛋白分子之上，而却不影響其結合抗原的能力。在紫外光顯微鏡下，此種染料能吸收波長較短的紫外線而發射波長較長的可見光譜 (即螢光)。

原來的入射光由障礙濾光鏡 (Barrier filter) 除去，這樣一來，能看到的只剩下射出的螢光了。茲簡述這兩種方法如下：

直接法：先把對於某種抗原所產生的特殊抗體以螢光素處理，使這兩者結合在一起而成為螢光抗體。其次，再把此螢光抗體覆蓋於含有抗原的組織、細胞或微生物等的作用物 (Substrate) 上，這樣一來，抗原

抗體相結合之處，也就是螢光素所到之處。

B、間接法：先把含有某種抗體的血清覆蓋於含有適當抗原的作用物之上，再覆以標有螢光染料的抗人類球蛋白抗體。這樣一來，抗原與抗體首先互相作用而結合起來，然後抗體再與標有螢光染料的抗人類球蛋白抗體相結合，因而就被夾在中間，像「三明治」一樣。在紫外光顯微鏡下看來，抗原抗體作用的地方就會發螢光。此法對於確認循環於血清中的抗體特別有用，它很敏感又具有高度的專一性，特別是適當地利用對照組 (Control) 來區分任何非特殊性的螢光時。(參考附圖一)

一般最常用的螢光染料是螢光素 (Fluorescein isothiocyanate FITC) 及紅胺素 (Rhodamine)。前者是產生綠色螢光，後者則發出紅色螢光。

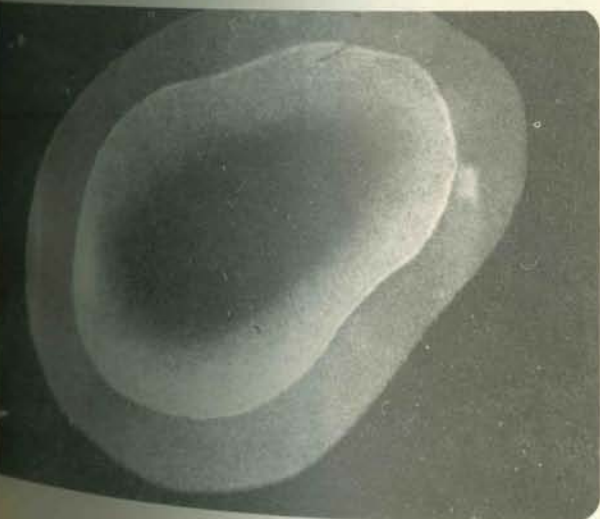
螢光染料經紫外線照射後，容易逐漸喪失螢光性質。假如貯存在冰箱內 ( $4^{\circ}\text{C}$ )，則可以保存螢光性質達數日到數週之久，以供日後再檢查之用。必要時可攝影以留永久記錄。

免疫螢光術在臨床應用上最有幫助的是自體免疫 (Autoimmune disease) 和過敏性疾病的診斷以及細菌、病毒、真菌及寄生蟲等的確認。

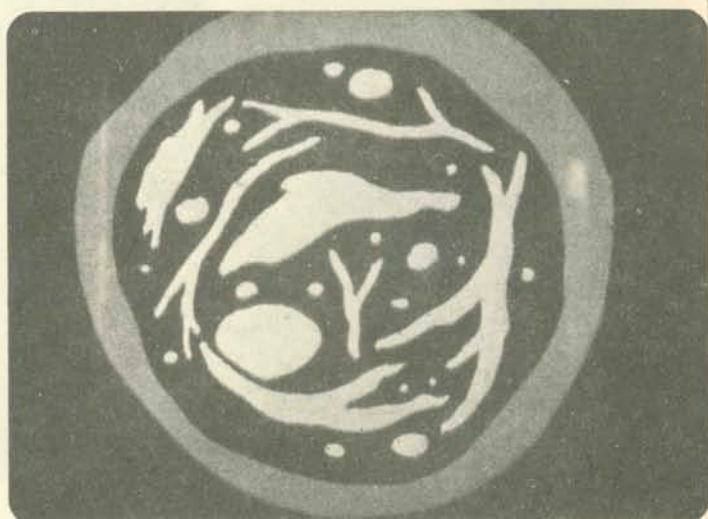
一般內科上的應用：

1. 抗核抗體 (Antinuclear antibodies, ANA)：

這是臨床上最常用的間接免疫螢光術之一。可用來診斷許多結締組織病，尤其是紅斑狼瘡 (Systemic Lupus



圖三：邊緣型的螢光



圖四：線條型的螢光

Erythematosus)。這些病人的免疫系統不知什麼原因有了毛病，對自己的身體的組織居然陌生起來，拼命地產生抗體來對抗自己的組織。結果是血清裡有了抗核抗體，老是跟自己的細胞過意不去。

微有損傷的白血球的細胞核受到它的攻擊，就會腫大而呈一團模糊，而自細胞漿內釋放出一種叫做「狼瘡體」(LE body)。這一團核物質如再與補體(Complement)作用，可能是因而產生趨化因子(chemotactic factors)的緣故，會再吸引來許多其他完好的白血球，像花瓣圍著花蕊般地把它包圍起來(Rosette formation)。在這一場爭奪戰當中，其中之一的白血球捷足先登，把這團核物質狼吞虎嚥下去了。結果因為吞吃了外來的核，也就把它自己的核給擠到細胞膜的邊緣去了，於是形成有名的「狼瘡細胞」(LE cell)。(附圖二：「狼瘡細胞」的形成)

「狼瘡細胞」對於狼瘡的診斷很有幫助，百分之七十五的活動性狼瘡(Active SLE)及百分之五十的緩解期間的病人(in remission)有之。

但是，它並不僅見於SLE，其他疾病如：風濕樣關節炎、狼瘡樣肝炎、藥物反應(如：Hydralazine, Procainamide, 抗痙攣劑及磺胺劑等)、部份鞏皮症(Scleroderma)及皮肌炎(Dermatomyositis)的病人等也可見到。

若用間接免疫螢光術偵測血清中的抗核抗體(也就是LE cell inducing factor)，則百分之九十的狼瘡病人

及百分之五十的慢性活動性肝炎的病人為陽性。檢驗抗核抗體已可取代LE cell。故這種檢驗：

犧牲一頭白鼠，取出其肝臟，使稍裂開。輕輕觸鼠肝，則肝細胞就會塗附於玻片之上，置於70%酒精裏頭，固定十分鐘，再以緩衝食鹽水沖洗。以吸水紙壓乾玻片，加上五、六滴已以緩衝食鹽水稀釋的病人血清，使之覆蓋於塗有肝細胞之處，於37°C濕氣的盒中半小時，再取出玻片，以緩衝食鹽水沖洗，每次五分鐘。以吸水紙壓乾，再覆以三、四滴含有螢光素的抗人類球蛋白血清(此種反應素可由藥公司購得，每西西約美金廿元)。重新放入37°C中一小時，而後取出玻片，以緩衝食鹽水沖洗二次(每分鐘)，以吸水紙壓乾，加上一滴封固液(Mounting medium)，覆上蓋玻片，即可在紫外光顯微鏡下檢視。

如有陽性反應，病人血清可依序加倍稀釋(1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048, 1/4096, 1/8192, 1/16384, 1/32768, 1/65536, 1/131072, 1/262144, 1/524288, 1/1048576, 1/2097152, 1/4194304, 1/8388608, 1/16777216, 1/33554432, 1/67108864, 1/134217728, 1/268435456, 1/536870912, 1/1073741824, 1/2147483648, 1/4294967296, 1/8589934592, 1/17179869184, 1/34359738368, 1/68719476736, 1/137438953472, 1/274877906944, 1/549755813888, 1/1099511627776, 1/2199023255552, 1/4398046511104, 1/8796093022208, 1/17592186044416, 1/35184372088832, 1/70368744177664, 1/140737488355328, 1/281474976710656, 1/562949953421312, 1/1125899906842624, 1/2251799813685248, 1/4503599627370496, 1/9007199254740992, 1/18014398509481984, 1/36028797018963968, 1/72057594037927936, 1/144115188075855872, 1/288230376151711744, 1/576460752303423488, 1/1152921504606846976, 1/2305843009213693952, 1/4611686018427387904, 1/9223372036854775808, 1/18446744073709551616, 1/36893488147419103232, 1/73786976294838206464, 1/147573952589676412928, 1/295147905179352825856, 1/590295810358705651712, 1/1180591620717411303424, 1/2361183241434822606848, 1/4722366482869645213696, 1/9444732965739290427392, 1/18889465931478580854784, 1/37778931862957161709568, 1/75557863725914323419136, 1/151115727451828646838272, 1/302231454903657293676544, 1/604462909807314587353088, 1/1208925819614629174706176, 1/2417851639229258349412352, 1/4835703278458516698824704, 1/9671406556917033397649408, 1/19342813113834066795298816, 1/38685626227668133590597632, 1/77371252455336267181195264, 1/154742504910672534362390528, 1/309485009821345068724781056, 1/618970019642690137449562112, 1/1237940039285380274899124224, 1/2475880078570760549798248448, 1/4951760157141521099596496896, 1/9903520314283042199192993792, 1/19807040628566084398385987584, 1/39614081257132168796771975168, 1/79228162514264337593543950336, 1/158456325028528675187087900672, 1/316912650057057350374175801344, 1/633825300114114700748351602688, 1/1267650600228229401496703205376, 1/2535301200456458802993406410752, 1/5070602400912917605986812821504, 1/10141204801825835211973625643008, 1/20282409603651670423947251286016, 1/40564819207303340847894502572032, 1/81129638414606681695789005144064, 1/162259276829213363391578010288128, 1/324518553658426726783156020576256, 1/649037107316853453566312041152512, 1/1298074214633706907132624082305024, 1/2596148429267413814265248164610048, 1/5192296858534827628530496329220096, 1/10384593717069655257060992658440192, 1/20769187434139310514121985316880384, 1/41538374868278621028243970633760768, 1/83076749736557242056487941267521536, 1/166153499473114484112975882535043072, 1/332306998946228968225951765070086144, 1/664613997892457936451903530140172288, 1/1329227995784915872903807060280344576, 1/2658455991569831745807614120560689152, 1/5316911983139663491615228241121378304, 1/10633823966279326983230456482242756608, 1/21267647932558653966460912964485513216, 1/42535295865117307932921825928971026432, 1/85070591730234615865843651857942052864, 1/170141183460469231731687303715884105728, 1/340282366920938463463374607431768211456, 1/680564733841876926926749214863536422912, 1/1361129467683753853853498429727072845824, 1/2722258935367507707706996859454145691648, 1/5444517870735015415413993718908291383296, 1/10889035741470030830827987437816582766592, 1/21778071482940061661655974875633165533184, 1/43556142965880123323311949751266331066368, 1/87112285931760246646623899502532662132736, 1/174224571863520493293247799005065324265472, 1/348449143727040986586495598010130648530944, 1/696898287454081973172991196020261297061888, 1/1393796574908163946345982392040522594123776, 1/2787593149816327892691964784081045188247552, 1/5575186299632655785383929568162090376495104, 1/11150372599265311570767859136324180752990208, 1/22300745198530623141535718272648361505980416, 1/44601490397061246283071436545296723011960832, 1/89202980794122492566142873090593446023921664, 1/178405961588244985132285746181186892047843328, 1/356811923176489970264571492362373784095686656, 1/713623846352979940529142984724747568191373312, 1/1427247692705959881058285969449495136382746624, 1/2854495385411919762116571938898990272765493248, 1/5708990770823839524233143877797980545530986496, 1/11417981541647679048466287755595961091061972992, 1/22835963083295358096932575511191922182123945984, 1/45671926166590716193865151022383844364247891968, 1/91343852333181432387730302044767688728495783936, 1/182687704666362864775460604089535377456991567872, 1/365375409332725729550921208179070754913983135744, 1/730750818665451459101842416358141509827966271488, 1/1461501637330902918203684832716283019655932542976, 1/2923003274661805836407369665432566039311865085952, 1/5846006549323611672814739330865132078623730171904, 1/11692013098647223345629478661730264157247460343808, 1/23384026197294446691258957323460528314494920687616, 1/46768052394588893382517914646921056628989841375232, 1/93536104789177786765035829293842113257979682750464, 1/187072209578355573530071658587684226515959365500928, 1/374144419156711147060143317175368453031918731001856, 1/748288838313422294120286634350736906063837462003712, 1/1496577676626844588240573268701473812127674924007424, 1/2993155353253689176481146537402947624255349848014848, 1/5986310706507378352962293074805895248510699696029696, 1/11972621413014756705924586149611790497021399392059392, 1/23945242826029513411849172299223580994042798784118784, 1/47890485652059026823698344598447161988085597568237568, 1/95780971304118053647396689196894323976171195136475136, 1/191561942608236107294793378393788647952342390272950272, 1/383123885216472214589586756787577295904684780545900544, 1/766247770432944429179173513575154591809369561091801088, 1/1532495540865888858358347027150309183618739122183602176, 1/3064991081731777716716694054300618367237478244367204352, 1/6129982163463555433433388108601236734474956488734408704, 1/12259964326927110866866776217202473468949912977468817408, 1/24519928653854221733733552434404946937899825954937634816, 1/49039857307708443467467104868809893875799651909875269632, 1/98079714615416886934934209737619787751599303819750539264, 1/196159429230833773869868419475239575503198607639501078528, 1/392318858461667547739736838950479151006397215279002157056, 1/784637716923335095479473677900958302012794430558004314112, 1/1569275433846670190958947355801916604025588861116008628224, 1/3138550867693340381917894711603833208051177722232017256448, 1/6277101735386680763835789423207666416102355444464034512896, 1/12554203470773361527671578846415332832204710888928069025792, 1/25108406941546723055343157692830665664409421777856138051584, 1/50216813883093446110686315385661331328818843555712276103168, 1/100433627766186892221372630771322662657637687111424552206336, 1/200867255532373784442745261542645325315275374222849104412672, 1/401734511064747568885490523085290650630550748445698208825344, 1/803469022129495137770981046170581301261101496891396417650688, 1/1606938044258990275541962092341162602522202993782792835301376, 1/3213876088517980551083924184682325205044405987565585670602752, 1/6427752177035961102167848369364650410088811975131171341205504, 1/12855504354071922204335696738729300820177623950262342682411008, 1/25711008708143844408671393477458601640355247900524685364822016, 1/51422017416287688817342786954917203280710495801049370729644032, 1/102844034832575377634685573909834406561420991602098741459288064, 1/205688069665150755269371147819668813122841983204197482918576128, 1/411376139330301510538742295639337626245683966408394965837152256, 1/822752278660603021077484591278675252491367932816789931674304512, 1/1645504557321206042154969182557350504982735865633579863348609024, 1/3291009114642412084309938365114701009965471731267159726697218048, 1/6582018229284824168619876730229402019930943462534319453394436096, 1/13164036458569648337239753460458804039861886925068638906788872192, 1/26328072917139296674479506920917608079723773850137277813577744384, 1/52656145834278593348959013841835216159447547700274555627155488768, 1/105312291668557186697918027683670432318895095400549111254310977536, 1/210624583337114373395836055367340864637790190801098222508621955072, 1/421249166674228746791672110734681729275580381602196445017243910144, 1/842498333348457493583344221469363458551160763204392890034487820288, 1/1684996666796914987166688442938726917102321526408785780068975640576, 1/3369993333593829974333376885877453834204643052817571560137951281152, 1/6739986667187659948666753771754907668409286105635143120275902562304, 1/13479973334375319897333507543509815336818572211270286240551805124608, 1/26959946668750639794667015087019630673637144422540572481103610249216, 1/53919893337501279589334030174039261347274288845081144962207220498432, 1/107839786675002559178668060348078522694548577690162289924414440996864, 1/215679573350005118357336120696157045389097155380324579848828881993728, 1/431359146700010236714672241392314090778194310760649159697657763987456, 1/862718293400020473429344482784628181556388621521298319395315527974912, 1/1725436586800040946858688965569256363112777243042596638790631055949824, 1/3450873173600081893717377931138512726225554486085193277581262111899648, 1/6901746347200163787434755862277025452451108972170386555162524223799296, 1/13803492694400327574869511724554050904902217944340773110325048447598592, 1/27606985388800655149739023449108101809804435888681546220650096895197184, 1/55213970777601310299478046898216203619608871777363092441300193790394368, 1/110427941555202620598956093796432407239217743554726184882600387580788736, 1/220855883110405241197912187592864814478435487109452369765200775161577472, 1/441711766220810482395824375185729628956870974218904739530401550323154944, 1/883423532441620964791648750371459257913741948437809479060803100646309888, 1/1766847064883241929583297500742918515827483896875618958121606201292619776, 1/3533694129766483859166595001485837031654967793751237916243212402585239552, 1/7067388259532967718333190002971674063309935587502475832486424805170479104, 1/14134776519065935436666380005943348126619871175004951664972849610340958208, 1/28269553038131870873332760011886696253239742350009903329945699220681916416, 1/56539106076263741746665520023773392506479484700019806659891398441363832832, 1/113078212152527483493331040047546785012958969400039613319782796882727665664, 1/226156424305054966986662080095093570025917938800079226639565593765455331328, 1/452312848610109933973324160190187140051835877600158453279131187530910662656, 1/904625697220219867946648320380374280103671755200316906558262375061821325312, 1/1809251394440439735893296640760748560207343510400633813116524750123642650624, 1/3618502788880879471786593281521497120414687020801267626233049500247285301248, 1/7237005577761758943573186563042994240829374041602535252466099000494570602496, 1/14474011155523517887146373126085988481658748083205070504932198000989141204992, 1/28948022311047035774292746252171976963317496166410141009864396001978282409984, 1/57896044622094071548585492504343953926634992332820282019728792003956564819968, 1/115792089244188143097170985008687907853269984665640564039457584007913129639936, 1/231584178488376286194341970017375815706539969331281128078915168015826259279872, 1/463168356976752572388683940034751631413079938662562256157830336031652518559744, 1/926336713953505144777367880069503262826159877325124512315660672063305037119488, 1/1852673427907010289554735760139006525652319754650249024631321344126610074238976, 1/370534685581402057910947152027801305130463950

而剛加上去的螢光抗體也因沒有抗核抗體可資結合，在洗滌過程中被洗掉了，所以在顯微鏡下，鼠肝的細胞核不發螢光。此法應有一已知的陽性及陰性的細胞核發螢光為對照之用。

細胞核發螢光有許多不同的型式，有助於診斷不同的疾病。根據 Dr. Burnkam 的研究，常見的有以下六種型式：

1. 邊緣型 (Peripheral fluorescence) :

細胞核邊緣最亮，中央較暗淡，此型是 ANA 與可溶性 DNA-Histone 作用的結果，常見於嚴重的全身性紅斑性狼瘡 (見附圖三)。

2. 線型 (Threads) :

細胞核內有長短寬窄不等的線條煥發螢光，常見於狼瘡 (見附圖四)。

3. 斑點型 (Speckles) :

細胞核內螢光呈點狀分佈，此型是 ANA 與可溶於鹽水的 DNA 成分，或是核的 RNA 作用的結果，主要見於鰐皮症或雷諾氏病 (Raynaud's disease)，一般不見於狼瘡 (見附圖五)。

4. 核仁型 (Nuclear fluorescence) :

只有圓形光滑的核仁發螢光。此型是 ANA 與 4—6 S 的核仁 RNA 作用的結果，常見於鰐皮症，很少見於狼瘡或風濕樣關節炎。(見附圖六)

5. 均勻型 (Homogenous fluorescence) :

整個細胞核均勻地發螢光，有時可見空泡。此型最為

普通，是由 ANA 與 DNA-Histone 作用的結果。濃度在 160 或以上時，在診斷上才顯示重要。此型病人可能有膠原病或惡性病。(見附圖七)

f. 均勻特殊白血球抗核抗體型 (Homogenous Leukocyte-specific ANA) :

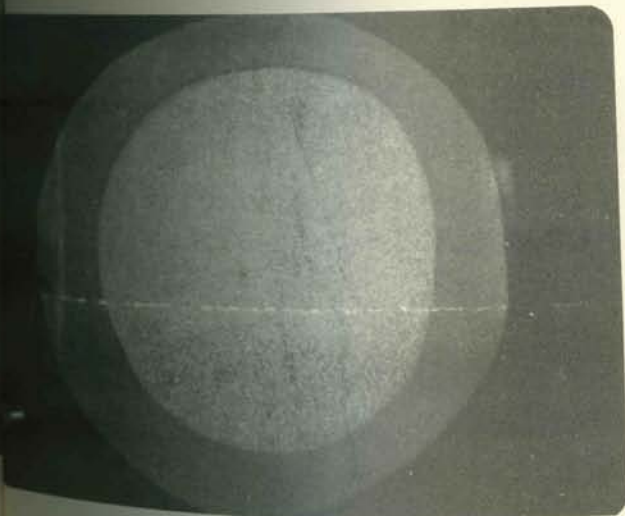
少數型狀不規則的細胞核強烈地發出螢光或僅有微弱的螢光。此型主要見於風濕樣關節炎及紅斑性狼瘡，偶而見於藥物引起的狼瘡，很少見於鰐皮病。(見附圖八)

除了以上六種主要型之外，尚有八、九種較少見，較不特殊的型。這些少見的型較不關聯到特殊的疾病，但是，美國底特律的醫師指出：如有發現，應該懷疑惡性病存在的可能性。

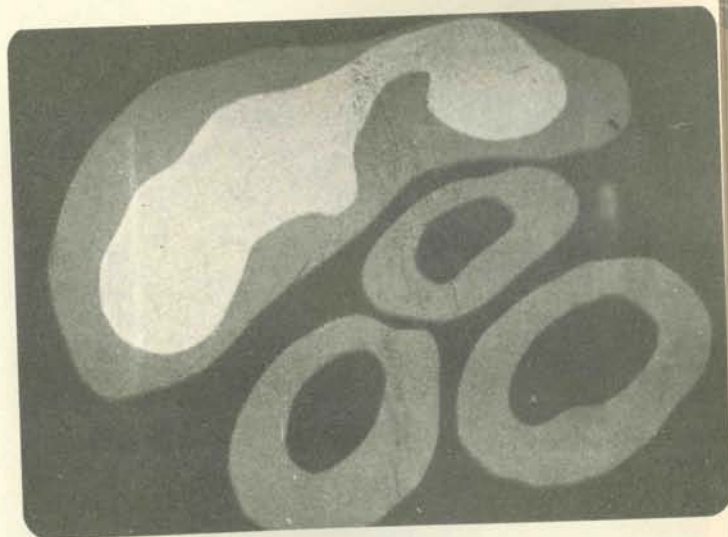
事實上，沒有那一種型可以確切地診斷某一種特殊疾病。即使健康人也有百分之三十，有濃度少於 1/10 的抗核抗體，另有少數健康的老年人有 titer 大於 1/10 的 ANA。

2. 抗平滑肌抗體 (Anti-smooth-muscle antibody, ASMA) :

百分之五十至八十的慢性活動性肝炎的病人及百分之二十以上的內因性哮喘 (Intrinsic asthma) 的病人，其血清中有此抗體。最近的研究指出 ASMA 是一種自我抗體 (Autoantibody)，作用在於對抗一種叫做肌纖蛋白 (Actin) 的物質。Actin 不僅見於平滑肌，也見於其他非平滑肌細胞，如：肝、甲狀腺及腎的絲球體的細胞之內可收縮的原纖維 (Intracellular contractile fibril)



圖七：均勻型的螢光



圖八：均勻特殊白血球抗核抗體型螢光

。根據最近英國及西德的學者對 312 位病人血清的研究，ASMA 尚可分為三型：

- a. SMA—V ( Vessels )：濃度低，只與血管壁的平滑肌作用。
- b. SMA—G ( Glomerulus )：螢光素可染及血管及腎絲球體。
- c. SMA—T ( Tubules )：血清中濃度較高，可染及血管、腎絲球體及腎小管的細胞內原纖維。此型主要見於慢性活動性肝炎。

目前美國有些醫院多採用臨床科學公司 ( CSI ) 所製售的小盒，內含各種反應劑及裝備好的鼠胃切片。試驗時，只要將病人的血清稀釋十倍，滴在玻片的鼠胃組織上，放在該濕氣小盒中半小時，經沖洗後，再覆以兩滴 Conjugate ( 即標有螢光素的抗人類球蛋白抗體 )，置於室溫濕氣中半小時，取出壓乾，覆以蓋玻片，即可在紫外光顯微鏡下檢視。如發現鼠胃中的平滑肌發出螢光，就表示病人血清中有抗平滑肌抗體，顯示病人很可能有慢性活動性肝炎。

### 3. 抗粒線體抗體 ( Antimitochondrial antibody ,AMA )：

約有百分之七十五至九十五的原發性膽汁性肝硬化 ( Primary biliary cirrhosis ) 的病人血清中有此抗體，其他肝病很少有之。通常以鼠腎做 Substrate，因腎小管的上皮細胞含有豐富的粒線體，如果試驗屬陽性，則細胞漿發出螢光，細胞核因不含粒線體而呈暗淡。(見附圖九)



圖九：顯示細胞漿發螢光，細胞核則否

### 4. 抗壁細胞抗體 ( Antiparietal cell antibody )：

對貧血的鑑別診斷很有幫助，大約百分之八十的惡性貧血 ( Pernicious anemia ) 的病人血清中有此抗體，而貧血的病人則無。偶可見於無症狀的胃炎病人。是把病人血清覆於鼠胃上，再加上螢光抗體，檢查壁細胞有無發螢光。

### 5. 抗骨骼肌抗體 ( Antiskeletal muscle antibody )：

百分之三十至四十的重症肌無力 ( Myasthenia gravis ) 的病人血清中有此抗體，以免疫螢光術測定其病情，有助於外科治療 ( 如：胸腺切除術 ) 及療效的評估。

### 6. 抗心臟抗體 ( Antimyocardial antibody )：

常見於心臟手術後或心肌梗塞 ( Myocardial infarction ) 的病人血清，亦可見於風濕熱病人。對於輕度的心臟病，其他診斷方法無法測出時，此法具有價值，以鼠心臟做 Substrate。

## 四、腎臟科上的應用

免疫螢光術在腎臟病的診斷上有重要的地位。腎活體切片 ( Biopsy ) 檢查時，除了可做一般的伊紅染色 ( H&E stain ) 及電子顯微鏡檢查外，腎組織做冷凍切片 ( Frozen section )，再以各種螢光素的抗球蛋白 ( 或補體 ) 血清 ( 如：Anti - IgG, Anti - IgM, Anti - IgA, Anti - C<sub>3</sub> 等 ) 覆蓋於切片上，這樣若病人的腎臟裡有免疫複合物 ( Immune complex ) 沈積的話，可被加上去的螢光抗體結合上而呈現螢光。



圖十：在輕度狼瘡，抗IgG抗體顯示免疫球蛋白局限於腎血管球間質。

這些發光的沈積物在腎絲球體內散佈的形態，對於不同的 immune complex 引起的腎臟病的診斷大有裨益。根據美國 Dr. Robert T. Mc Cluskey 的研究，在腎絲球體內沈積的型式可分以下幾

種：

1. 血管球間質沈積 (Mesangial Deposits) :  
主要見於柏格腎病 (Berger's IgA Nephropathy) 及類過敏性紫斑腎炎。在輕度狼瘡，抗 IgG 抗體顯示免疫球蛋白局限於腎血管球間質 (見附圖十一)。

2. 顆粒狀 (Granular Deposits) :

粗或細的顆粒狀的球蛋白或補體沿著腎血管球的基膜 (相當於電子顯微鏡下沿基膜外緣或增厚的基膜內的沈積物)。在慢性腎絲球體腎炎 (Membranous glomerulonephritis)，顆粒較多而粗；在急性鏈狀球菌感染後 (Acute poststreptococcal glomerulonephritis) 及原因不明的急性腎絲球體腎炎，螢光顆粒較細而疏。

3. 而不規則的沈積 (Broad irregular deposits) :

此型通常表示內膜細胞下 (Subendothelial) 的沈積，見於嚴重的狼瘡腎炎及膜性增殖性腎絲球體腎炎 (Membranous proliferative glomerulonephritis)。附圖十顯示較嚴重的狼瘡腎炎中免疫球蛋白沿著基膜呈顆粒狀

混合型 (Mixed patterns) :

以上各型的混合型亦可見之，在嚴重的增殖性狼瘡腎

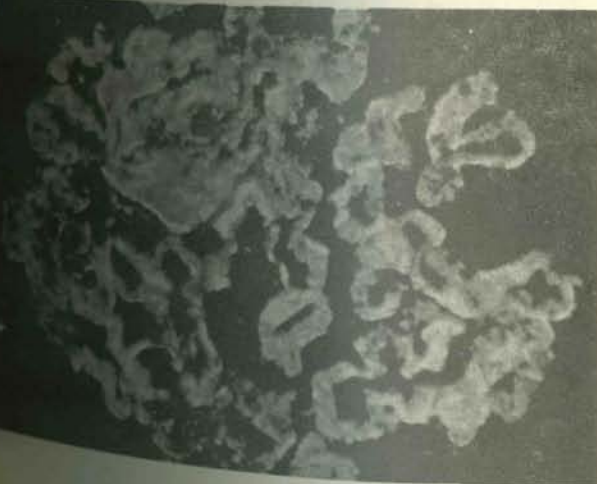
炎 (Severe proliferative lupus nephritis)，沈積常同時見於基膜及間質 (GBM & Mesangial regions)。此型亦見於嚴重的過敏樣紫斑腎炎 (Anaphylactoid purpura nephritis)。

除以上各型外，有些沈積隨隨便便不成形式，簡直無法分析或描寫。有些沈積則十分細而光滑且沿著基膜作間斷的線樣沈積 (Interrupted linear deposits)，其意義不明，可能也代表免疫複合物。另有一種十分光滑且沿著基膜的線樣、完全連續性的沈積，則不屬於 immune complex disease，而另成一大類，稱為抗基膜抗體病 (Anti-GBM antibody disease)。此型主要見於 Goodpasture's syndrome 及快速進行性腎絲球體腎炎 (Rapidly progressive glomerulonephritis) 或慢性腎絲球體腎炎 (Chronic glomerulonephritis)。

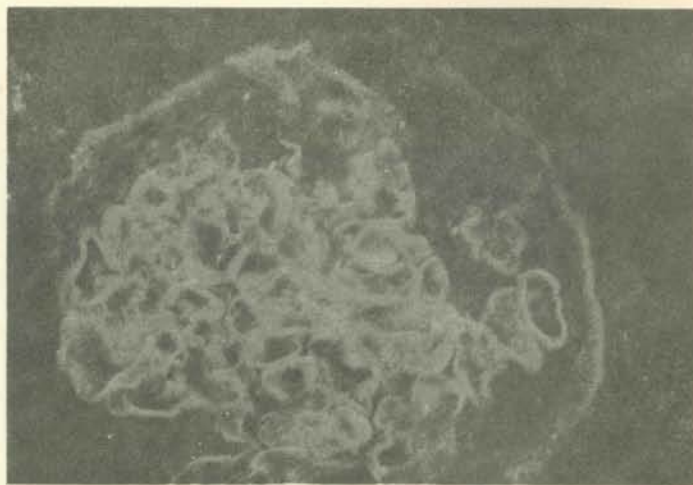
多年來，免疫螢光術大都用於腎絲球病 (Glomerular disease) 的診斷。很少被用於移植腎或腎小管間質病 (Tubulointerstitial disease) 的診斷。近年來學者認為免疫螢光術對這兩種情況的研究及分類亦具有相當的價值與用處。附圖十二顯示：抗基膜抗體沿著腎絲球基膜作光滑連續的線樣沈積。此型常見於 Goodpasture's Syndrome。

## 五、皮膚科上的應用

臨上天天皰瘡 (Pemphigus) 與大水疱性類天皰瘡 (Bullous pemphigoid) 有時很難區分，如做皮膚活體切



圖十一：顯示較嚴重的狼瘡腎炎中免疫球蛋白沿著基膜呈顆粒狀沈積。



圖十二：抗基膜抗體沿著腎絲球基膜作光滑連續的線樣沈積。此型常見於 Goodpasture's Syndrome。

片，以直接免疫螢光術檢查，即十分容易區別。前者可見免疫球蛋白（IgG）固定在表皮的有棘細胞層（Prickle cell layer）的細胞間質（Intercellular substance）而呈蜂窩狀的螢光，見附圖十三。後者可見 IgG 沿著基膜沈澱，見附圖十四。

也可用間接免疫螢光法，以猴子的食道做 substrate，加上病人血清及螢光抗體。可測出對皮膚的不同的自我抗體（Autoantibodies）。在疱疹性皮膚炎（Dermatitis herpetiformis）的病人，百分之八十到百分之百可見到 IgA 沈積在基膜區。狼瘡病人的皮膚病灶內百分之九十可見到球蛋白或補體沈積在基膜區。

## 六、微生物學上的應用

### 1. 梅毒的診斷（FTA - Abs）

以梅毒螺旋體塗在玻片上，覆以病人血清（須先加熱  $56^{\circ}\text{C}$ ，三十分鐘）及螢光抗體。在紫外光顯微鏡下，如梅毒菌發螢光，即表示病人血清中有梅毒抗體。

### 2. 弓漿蟲症（Toxoplasmosis）的診斷：

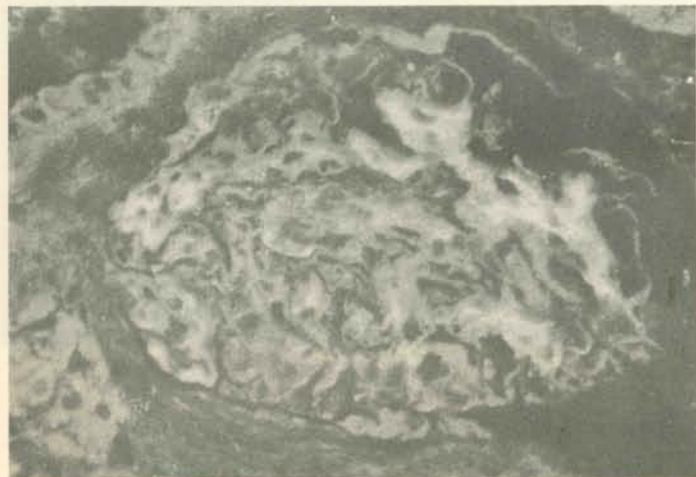
以培養的弓漿蟲（*Toxoplasma gondii*）塗於玻片上，加入病人血清及 conjugate，如弓漿蟲周邊發綠色螢光，即為陽性反應，如只見紅色弓漿蟲即為陰性。

### 3. 肺囊蟲症（Pneumocystosis）的診斷：

卡氏肺囊蟲（*Pneumocystis carinii*），一般認為是一種原蟲（protozoa），極易感染早產兒，情況不佳的新生兒或其他接受放射、抗癌及類固醇（steroid）治療的病人，引起嚴重的肺炎。此蟲迄今未經人工培養成功，雖可由肺活體切片或檢查氣管抽出液等法查出，但却不是理想的診斷方法。最近美國的疾病管制中心（CDC）已發展成功診斷此症的間接免疫螢光法。但仍未普遍應用。

### 4. 腺病毒（Adenovirus）感染的診斷：

利用免疫螢光術可直接偵測感染細胞內的腺病毒。



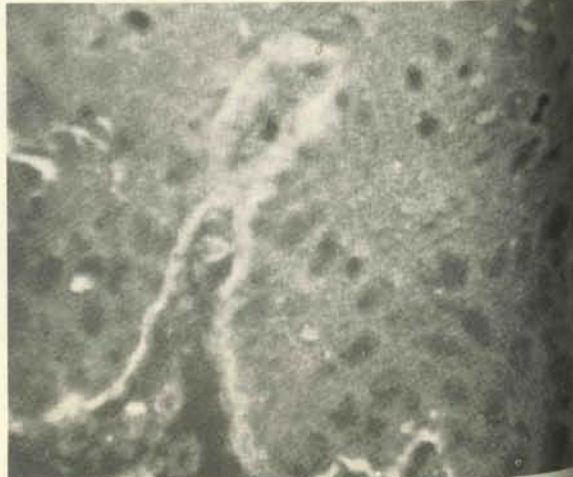
圖十三：蜂窩狀的螢光

## 七、展望與結語

以上所述，只是免疫螢光術在臨床上的一些應用。有些是一般的醫院都可做的檢驗，有些則是在實驗室才做的。另外還有許多的應用，仍在研究中。譬如，利用它來做淋巴球的表面標記（Surface markers）以區分 T-淋巴球與 B-淋巴球等。在不久的將來，免疫螢光術將會更普遍，其應用範圍將增大，而在各種臨床診斷方法中佔一十分重要的地位。

## 八、摘要

免疫螢光術已經被運用了 30 多年。經過不斷的改進與應用，這種技術現在適用於許多臨床情況上。在臨床實驗室裡被廣泛地甚至例行地使用著。有兩種方式，直接的和間接的，為人所知。例如在免疫症的診斷上，尤其是 SLE，使用此種技術可檢測出抗核抗體。它也能檢查出抗平滑肌、粒線體、骨骼肌和心肌等的自體抗體。也有助於慢性活動性膽性肝硬變、惡性貧血、重症肌無力和心臟病的診斷。免疫螢光術應用在腎臟活體切片上，有助於診斷腎臟疾病的性質，尤其是 immune complex glomerular disease 和 anti-GBM antibody disease。至對於腎臟異體移植（Allografts）和小管間質病（tubulointerstitial diseases）的病灶之分類亦有所助益。它使得狼瘡、天皰瘡、大水皰瘡和疱疹性皮膚炎的診斷更加方便。它在微生物學上，尤其是對梅毒和弓漿蟲病的診斷是早就有名的。吾人預測在不久的將來，此種技術很可能更廣泛地應用在各種臨床情況的診斷上。（作者通訊處：Mr. Ko, M. D. Department of Pathology Medical College of Pennsylvania, Philadelphia, Pa, U.S.A.）



圖十四：IgG沿著基膜沈澱