

IMMUNOPATHOLOGY OF THE SKIN

皮肤免疫病理学

(中译本)

ERNST H. BEUTNER 主编

郭定九 易 凡 陈服文主校

湖南医学院附一、二院皮肤病学教研组译

一九八二年九月

内 容 简 介 与 出 版 说 明

《皮肤免疫病理学》在国际上享有盛誉，为皮肤免疫病理的专著，由Beutner、E、H等教授主编邀请世界各国46位专家执笔写成。我院二个附属医院皮肤科组织人员翻译，现已出版内部发行，供临床医生，免疫工作者，病理学者，化验人员，医学院校及科研单位参考。

原书为16开本，496页，共27章，分为四大部分。

第一部分，介绍免疫病理学研究的方法等，该部又分为6章，从皮肤与血清的免疫荧光，谈及酶抗体，补体系统，以及自身免疫病理概念等。

第二部分，介绍大疱性疾病与免疫病理的关系。该部又分为9章，从天疱疮到疱疹皮炎，详加叙述。

第三部分，介绍结缔组织与免疫病理的关系。该部又分为7章，从混合结缔组织病理到狼疮带试验等。

第四部分，介绍标记抗体在皮肤免疫病理研究的新发现、新进展、新方法，该部又分为5章，从角质层的抗原抗体，到白细胞碎裂性血管炎等。

由于原书为影印本，图欠清晰，故将所有图删去，图解也均未译，有些表格及有关内容亦未译，故名为“摘译本”，请读者原谅。译文力争作到“信达雅”忠于原文，易于阅读。但由于译者与校者的水平有限，错误之处在所难免，希批评指正。

在翻译与出版中，蒙我院二个附属医院领导的支持。上海宝钢医院范淑姿大夫参加部分章节的译校工作。西安市中心医院贾泰元大夫对第二十七章作了一定修改。责任编辑由我院附二医院郭定九大夫担任，特此说明。

湖南医学院科研处

一九八二年八月

第一、二版前言 (综述)

本书是将免疫皮肤病学探索中一些有关的临床科研,方法学和经验组织成一个分支学科的初次赏试。当前,这个分支主要处理皮肤的免疫病理和免疫组织学检查,以应用规范的荧光免疫检查大疱性疾病和某些胶原性疾病为中心内容。第二版中发表了近年的若干重要进展,输送活检标本已广泛应用保存液,使几乎世界各地的临床皮肤病医师都可以利用荧光免疫检查,具有重大的意义。检查对象也从大疱性疾病和结缔组织病扩展到各种血管炎,扁平苔癣和脱屑性疾病,尤其是银屑病。从科研的观点看,有免疫电镜对超微结构的检查;从实用的观点看,有其它血清学方法如沉淀、凝集试验对可以抽提的核抗原已在免疫皮肤病的诊断中占有重要地位。

要使我们对所研究的疾病得出有意义的结论,必须能得到可重复的结果。所以各种检查的可重复性和各种规范的免疫荧光方法更为专门的应用,这是有成效地工作的先决条件。

建立皮肤的病理组织学花费了半个世纪,从定量血清学、免疫化学和荧光免疫等衍生出来的皮肤的免疫组织学和免疫病理学要达到同样成熟程度恐怕更难一些。工作要求的规范更加严格。但是,在大疱性和胶原性疾病的诊断和处理中已呈现的成果看,为建立可重复的规范试验系统所花费的精力是值得的。

要注意,缺乏经验的人去做本书所载的各种荧光免疫试验,常常出现错误的解释,会给病人带来危害。因而实验室工作人员要有半年以上的专门免疫学和免疫皮肤病学的训练。

免疫皮肤病学实验操作的建立和估价,都可能需要将近十年的时间。本书的编写,着重说明哪些实验已有确定的价值,哪些实验仍是探索性的。使免疫皮肤病学在诊断和处理有关皮肤病中的成果得巩固并不断发展。

易 凡 郭定九

一九八二年八月

目 录

第一部分 免疫病理学研究的适应症、方法和概念

第一章	有关皮肤病的皮肤和血清荧光免疫检查的指征	1
第二章	规范免疫荧光方法：基本概念及其在免疫皮肤病学的应用	11
第三章	人自身抗体在猴食道的免疫组织学	45
第四章	用于皮肤免疫病理学的酶抗体检查方法	50
第五章	天疱疮和大疱性类天疱疮补体系统	60
第六章	自身免疫的性质：病理反应与生理反应的比较及其统一概念	65

第二部分 大疱性疾病

第七章	天疱疮自身免疫的作用和性质	81
	一、天疱疮抗体和抗原的临床意义	
	二、天疱疮抗体和抗原的本质	
第八章	天疱疮棘层松解机制的离体研究器官培养和细胞浮液的研究	94
第九章	类天疱疮	98
第十章	瘢痕性类天疱疮	102
第十一章	Bransting-Perry 慢性局限性类天疱疮及其与大疱性类天疱疮的关系	105
第十二章	妊娠疱疹	108
第十三章	疱疹样皮炎：基础表现	112
第十四章	疱疹样皮炎的现代研究进展	121
第十五章	线状IgA 沉着的大疱性皮肤病	127
	一、线状IgA 沉着的大疱性皮肤病的成人型	
	二、儿童型线状IgA 沉着的大疱性皮肤病（儿童良性慢性大疱性疾病）	

第三部分 结缔组织疾病

第十六章	混合性结缔组织疾病，三篇综述	131
	一、混合性结缔组织疾病	
	二、混合性结缔组织疾病与其它结缔组织疾病的关系	
	三、混合性结缔组织疾病的前景	
第十七章	抗核机体：生化特性的意义	135
第十八章	结缔组织疾病患者的血清与可溶性组织自身抗原发生沉淀反应	141
第十九章	硬皮病的免疫现象	145
第二十章	抗核抗体：细胞核免疫荧光图型的一种简单分类法	155

第二十一章	抗核抗体滴度的意义·····	157
第二十二章	狼疮带试验 (L B T) ·····	163

第四部分 在皮肤免疫病理学研究中发现的其它示踪抗体

第二十三章	角质层的抗原和抗体·····	168
第二十四章	银屑病角质层抗体与临床的关系·····	173
第二十五章	皮肤卟啉病和药物光敏感诱发的卟啉病样皮肤变化·····	179
第二十六章	白血球碎裂性血管炎·····	184
第二十七章	血清抗体对表皮基底细胞浆的亲合力·····	188

第一章 有关皮肤病的皮肤和血清荧光免疫检查的指征

荧光免疫检查已成为一种对临床和组织学检查极有价值的补充方法。既能检查血清，又能检查活检标本。这些免疫学所见可具有疾病特异性，能诊断疾病；也可能只具有一定的特征和某些诊断价值；或其诊断意义虽不大，但免疫学所见能帮助澄清免疫现象在发病机制中可能起的作用。（表一）

一、用于皮肤病荧光免疫检查(IF)的标本

一、血清标本

大疱性和结缔组织疾病以及某些其他皮肤病的血清和活体组织荧光免疫检查的适应证摘要列于表（1）。

应采集不加抗凝剂的血液5至10毫升，在室温下从血凝块中分离出血清并送化验室。如果要送到另一个城市去做试验，血清标本可由没有冷冻设备的首次邮班运送。有人主张用无菌血清。如果没有分离血清的设备，那么就送凝固的血液。不要冷冻凝固的血液标本，因为冷冻会引起严重的溶血。邮寄标本有时会发生明显污染或血液冻结等问题。处理和检查血清及活检标本的详细方法见第二章。

二、皮肤活检标本

大疱或水疱性损害的活检最好是从两个部位取材。首先，最重要的是从接近损害而临床上未受累的皮肤或粘膜处取材，再从损害的边缘，最好是新鲜的损害边缘取材。有些专家喜欢只取一份活检，它既包含损害的边缘又有邻近的临床上看来正常的皮肤（见大疱性疾病章）。为了做系统性红斑狼疮（SLE）的诊断性检查应从损害部位和从日晒区外观正常的皮肤取材。为了了解SLE的预后，非日晒区皮肤取材比较合适。有些医师喜欢根据所怀疑的是盘状还是系统性红斑性狼疮来决定选择从外观正常的皮肤或损害部位取材（见结缔组织病节）。有些医师对疑为红斑性狼疮（LE）的病人，要求在损害部位和临床上看来正常的皮肤都做活检。为了研究血管炎，应从很新鲜的损害或注射组织胺的部位取材（见血管炎节）。

目前，快速冷冻和运输保存液是处理用于荧光免疫试验的活检标本的最广泛使用的方法。如果切取标本能用干纱布包好在1小时内送至化验室，则上述两种处理都不需要。

（1）快速冷冻

常用的快速冷冻有好几种方法（见第二章）。如果医院有适于快速冷冻活检标本的办法，就可使用这些方法。如果有液氮可用，可把活检标本放入清洁、干燥的试管中或塑料容器内或铝箔上或胶囊里。再注入液氮内快速冷冻。干冰和丙酮或乙醇混合糊也可作冷冻剂用。应把组织放在一个试管里，以避免组织与有机溶媒直接接触。冷冻组织的另一方法是把组织包埋在OCT包埋液中（Ames Co），可将此液倒入一个临时捏成的15 mm大小的铝箔杯中。被包埋的组织可快速冷冻并能在直至试验前贮藏在一70的温度中。为了得到可靠的结果，无论用哪种方法，活检的标本应立即冷冻。组织在送到化验

室之前，必须保持冷冻状态。

(2) 运输保存液

处理活检标本另外的方法是一种能使活检标本顺利运至化验室的特殊保存溶液中以快速冷冻处理的组织和把组织保存在运输液中数天至数周，两者的检查结果大致相同，所观察到的差异似乎是由于对活检标本检查的部分不同，而不是处理标本的方法所致，因此，此法已推广使用。

不能把快速冷冻和缓冲剂运输方法混在一起，即不能把冷冻的组织放在缓冲液中运输，必须控制运输保存液的 pH 值。这是否能解释用运输保存液的结果不如直接冷冻可靠这一个别现象，尚待决定。

二、基本方法

一、血清检查

(1) 表皮抗体的荧光免疫学检查

用规范的荧光免疫方法测定血清对猴的食道选择段的作用和血清妊娠性疱疹因子对正常人的皮肤的作用（见妊娠性疱疹节和第十二章）。用这种方法在病人的血清中至少可查出11种不同的组织抗体（见第三章）。其中最重要的是：

a. 与所有各型的真性天疱疮有关的天疱疮表皮细胞间抗体。必须用吸附方法使其与抗血型 A 和/或 B 的抗体鉴别（见第二章），用活体组织检查方法与天疱疮样抗体相鉴别。

b. 抗表皮层基底膜的抗体。这些抗体与类天疱疮有关。详见天疱疮节。

c. 抗骨骼肌抗体。这种抗体与天疱疮抗体同时出现时，则提示合并有胸腺瘤。

(2) 抗核抗体

高滴度的抗核抗体常与 SLE 有关，但也可见于其他结缔组织疾病。正常血清经常出现低滴度抗核抗体，所以必须了解检查实验室抗核抗体的正常范围，高滴度血清还应校对抗核抗体的类型，有对 DNA 具有特异性的抗体和抗其他核抗原的抗体。

(3) 补体测定

试管内补体染色测定是有价值的血清学方法。它可提供自身抗体怎样激活补体的有用的资料。因此，这些试验对免疫病理学，特别是对妊娠性疱疹的研究是相当有价值的（见第五章和本章中的妊娠性疱疹节）。现阶段，这些试验对其他疾病的诊断和治疗意义不大。用这种测定法对大疱性类天疱疮抗体作科学的研究，它揭示了大疱性类天疱疮抗体也能结合 C1q、C₄、C₃、B 因子和备解素（见第五章）。

二、活检标本检查

在规定的条件下做皮肤活检标本的直接免疫荧光检查（IF），可查出免疫球蛋白、补体成份和纤维素沉淀物。第二章详述了规定的荧光免疫所需的详细方法。原则上，在零下20°—30°C 的低温控制器中制备冰冻切片。如果用盖玻片，那么就应该用薄的（1号）非荧光显微盖玻片。常用非固定的空气干燥切片，并在与结合物孵育之前，用磷酸盐缓冲的生理盐水冲洗（至少30分钟）以清除从血液中渗出的非免疫性血清蛋白，常规地做检查 IgG、IgA、IgM 和 C₃ 沉积的试验，有些学者还做备解素、纤维蛋白溶酶原（纤维蛋白溶酶）或其他的血清蛋白的试验。虽然这些试验的临床意义尚未阐明，但在

很多类型的皮肤病中,包括LE、扁平苔藓、各型血管炎、银屑病、掌跖脓疱病、疱疹样皮炎和环状肉芽肿,能经常发现纤维素、纤维素降解产物或纤维蛋白溶酶原(纤维蛋白溶酶)。最近,已对银屑病和掌跖脓疱病例皮肤的纤维素和纤维素降解产物的沉淀物作了研究,其意义仍在探讨。

三、大疱性疾病

自从天疱疮的组织病理学发现有棘层松解以来,在分类学上天疱疮已被认为是不同于很多其他大疱性疾病的一种独立疾病,Lever氏提出类天疱疮这一名词是根据缺乏棘层松解和表皮下形成水疱以区别于天疱疮,荧光免疫检查证实了这一区别。

一、天疱疮

用血清检查天疱疮抗体适用于所有类型天疱疮即寻常性天疱疮、增殖性天疱疮、叶片状天疱疮(包括Brazilian型)和红斑性天疱疮。有些学者还提出疱疹样天疱疮(见皮肤活检标本节)。活检标本的荧光免疫检查也适用于天疱疮,因为此法既可靠又敏感(见第七章)。

(1) 血清检查

如果用不同时间的血清反复试验,实际上所有活动性病例均可测到天疱疮抗体。这些抗体是IgG组抗体,是抗皮肤和粘膜复层上皮的细胞间物质的。有时因技术问题,循环抗体不易查出。在那些情况下,就应该进行皮肤活检组织的直接荧光免疫检查。在有典型的临床和组织学改变时,滴度低到10或20(按第二章所述的标准试验方法测定),还可认为是符合天疱疮的诊断。当天疱疮的临床和组织学改变不典型、天疱疮抗体滴度低于10或20时,就应该用直接荧光免疫试验来证实天疱疮的诊断。临床与组织学的改变不典型,但天疱疮抗体滴度高于40时,可认为符合天疱疮的诊断。即使如此,也还有必要用直接免疫荧光检查。早期仅有少数损害时其循环抗体可能难于查出。处于缓解期的病例也是如此,怀疑为早期天疱疮的病例,其天疱疮抗体呈阴性或弱阳性或可疑反应时,应继续检查血清。天疱疮样抗体的滴度可高可低,例如在大面积烧伤后。其他情况下也可出现天疱疮样抗体,极偶然地也见于正常人。它们通常能自行消失。若天疱疮样抗体持续数月不退,则应引起医师的注意,可能发展为真正的天疱疮。天疱疮样抗体与天疱疮抗体的鉴别主要靠活检标本的检查。天疱疮样抗体在细胞间染色时呈阴性反应(见第二章)。细胞间抗体的持续存在还有预后价值。由于天疱疮抗体的滴度与临床情况密切相关,但不能根据一次测定的抗体滴度来调整药物(如类固醇或免疫抑制剂)剂量。显然,调整药物剂量时,必须考虑临床情况。然而,细胞间抗体的滴度升高两个稀释倍数或更多时,常是复发的讯号。同样的,滴度下降是病情得到有效控制的一个指标。所以定期采取病人血清,观察滴度的变化,对评价天疱疮的临床经过及对处理都是有益的。这些试验最好是每2—4周做一次直至病情缓解。缓解后可每1—6月重复一次。

(2) 皮肤活检标本

在所有活动性天疱疮病人的表皮中,经荧光免疫检查,均能证实有细胞间IgG的沉着。特别是未经治疗的天疱疮在细胞间IgG沉着处并有与补体相结合。做荧光免疫检查

的标本。应在靠近大疱而外观正常的皮肤上取材。在大疱处取材常因继发性改变易导致错误的结果。如果自新发大疱处取材，还要有一份邻近的正常皮肤的标本。

对于粘膜损害，免疫荧光检查的标本应从新发损害的周围取材。因粘膜上皮常有广泛剥脱，所以粘膜上皮的荧光免疫反应可能查不出来。

红斑性天疱疮，不仅有细胞间的免疫荧光反应，而且在真皮表皮交界处可证实有带状的 IgG 沉着。真皮——表皮交界处的荧光免疫反应主要位于皮肤损害之中，这些损害好发于面部和其他暴露处，而躯干和其他非暴露区则较少出现这种反应。

当从临床上和组织学上难于区别增殖性天疱疮和增殖性脓皮病时，也可用活体组织的荧光免疫试验协助鉴别；但增殖性脓皮病有时也可出现棘层松解的细胞。

疱疹样天疱疮（即有疱疹样皮炎临床特征的天疱疮）的免疫病理学研究显示出天疱疮荧光免疫检查的特点（见第十二章）。疱疹样天疱疮又被称为混合性大疱性疾病、棘层松解性疱疹样皮病和有棘层松解的疱疹样皮炎或对磺胺类治疗敏感的天疱疮。

不典型的天疱疮可以类似离心性环状红斑、多形红斑、间擦疹、口疮溃疡或其他疾病。血清和皮肤标本的免疫荧光检查对这些不典型的天疱疮能作出正确的诊断。皮肤标本对早期红斑性或叶片性天疱疮与角质层下脓疱病的鉴别也是有益的，因为只有真性天疱疮的细胞间荧光免疫才是阳性。

免疫荧光也有助于区别天疱疮与家族性良性慢性天疱疮和一时性棘层松解性皮肤病，后两者的免疫荧光检查肯定是阴性。

二、类天疱疮

活检和血清检查都有诊断价值（见第九、十和十一章）。类天疱疮的临床类型包括泛发性大疱性类天疱疮、局限性大疱性类天疱疮（幼年型）、和疤痕性类天疱疮（见第十章）。妊娠疱疹如同获得性大疱性表皮松解症一样与大疱性类天疱疮有许多共同的特征（见妊娠性疱疹节）。

（1）血清检查

抗表皮基底膜带抗原的抗体对类天疱疮有高度特异性，多数研究者发现70%以上的有活动性损害类天疱疮病人的血清内有这种抗体，但也有报告低至40%者。偶见此抗体滴度高低和类天疱疮的严重程度有着平行关系；但是，不能像天疱疮那样，把滴度的波动视作观察预后或疗效的指标。早期病例通常不能查出这种抗体。疤痕性类天疱疮患者出现血清抗基底膜抗体的百分率是低的（见第十章）。Brunsting—perry 变型也是如此（见第十一章）。

（2）皮肤活检标本

对大疱性类天疱疮或其变型，应从邻近大疱的红斑或外观正常的皮肤处取材，损害部位标本因基底膜被破坏，以致无所发现。如果新发的大疱可作活检，也可用来检查，但必须同时另取一份损害周围的皮肤。有时需对邻近大疱的组织做连续切片。只能发现 C₃ 的情形并非少见。所有的病例都应做皮肤活检，对血清为阴性者更为必要。

有口腔粘膜损害的疤痕性类天疱疮病人的标本，应从邻近糜烂或大疱的地方取材（见第十章）。在 Brunsting—Perry 型病人中，如果没有新鲜的大疱可自疤痕处取材，另从邻近的正常皮肤处取材，直接荧光免疫检查。大部份标本免疫球蛋白和补体均为阳性。

(见第十一章)。

(3) 妊娠疱疹

免疫荧光检查已证明妊娠疱疹是发生在妊娠期或妊娠后不久的水疱性疾病,可能与类天疱疮有关(第十二章)。在妊娠疱疹的血液中通常测不出 IgG 类抗基底膜带抗体,但用间接荧光免疫方法可见某些血清的补体确实能与基底膜结合。有人认为这可能是由于一种非免疫球蛋白血清因子所致,假定为“妊娠疱疹因子”。在离体试验现已查明补体结合于基底膜带是 IgG 类抗基底膜抗体,这种抗体的滴度很低,以致用常规的 IF 方法不能发现,但用免疫电子显微镜可发现。血清学检查一般是无用的除非以低稀释度血清用人皮肤作为基质进行补体间接荧光免疫测验活检组织的直接 IF 试验通常是最可靠的(见第十二章)。常可见有 C₃ 在 BMZ 上沉着。与大疱性天疱疮一样活检标本应从邻近损害处外观正常的皮肤处取材。此外,可从损害的边缘取活检。有些研究者喜欢自红斑损害处取材,最好是无水肿的区域取材。

在基底膜带处,能查出各种补体成份,通常有 C₃、C₃ 前活化酶、C₅ 和备解素。少数病例,和大疱性类天疱疮一样,还有 C₄ 和 IgG; 经常见到的是各种补体成份,特别是 C₃。(见第五章)。补体亦可存在于皮肤的血管壁内。

(4) 脱屑性牙龈炎

脱屑性牙龈炎是可以有各种不同的发病机制引起的。例如 Nisengard 等氏随机选择 20 例,作临床、组织学和荧光免疫检查,结果证实 2 例为天疱疮,7 例为疤痕性类天疱疮。组织学和免疫学检查均证实为扁平苔藓者 3 例,另有 1 例属银屑病样型,其余 7 例尚未查明。

三、疱疹样皮炎(DH)

疱疹样皮炎的分类在皮肤病学专家中引起了很多混乱。Cormane 氏用 IF 所发现的免疫球蛋白、Van der Meer 等氏发现的 IgA, Holubar 等氏发现的 C₃ 等已用于澄清 DH 在疾病分类学中的位置,并有助于弄清非典型 DH 的分类问题(见第十三、十四和十五章)。虽然 DH 较常见于成人,但儿童也可发病。儿童的 DH 具有成人 DH 的所有特点(见第十三和十四章)。但有时儿童 DH 的临床表现可不典型(见第十五章)。

(1) 血清检查

通常不能发现循环中的 IgG 类抗体。但近来有报告指出某些具有线状 IgA 沉着的病人,偶而发现有低滴度的抗 BMZ 的循环 IgA 类抗体(见第十四章)。血清的常规免疫荧光检查适用于鉴别疱疹样皮炎与大疱性类天疱疮。

(2) 皮肤活检标本

疱疹样皮炎病人取材位置极为重要。因为疱疹性损害本身的荧光免疫检查通常都是没有结果。活检标本应从损害周围的皮肤或任何其他正常的皮肤取材(见第十三—十五章)。

沉着的免疫球蛋白成分主要是 IgA, 或只有 IgA。同样真皮乳头处纤维蛋白的沉着是典型疱疹样皮炎的特征。其他的成份可能有 IgG、IgM 和/或 IgD、并常见到补体。IgA 沉着有两种类型:

a. 颗粒型(或斑点型)或纤维型,又可称为乳头型。这是最常见的一型;沉着于

基底膜下的真皮乳头内，少数沉着于表皮的钉突下，此型常见于典型的DH(见表1)。

b. 线状型(或连续型) IgA 沿基底膜呈线状沉着，类似于大疱性类天疱疮的荧光免疫检查所见的 IgA，与免疫电镜观察的结果基本一致。此型似乎与一种独特的疾病有关(见第十五章)。这种疾病的准确分类至今仍未确定。具有这种类型 IgA 沉着的病例也曾被报告为“儿童良性慢性大疱性疾病”、“儿童疱疹样皮炎”和另一型“类天疱疮”。不管该疾病怎样分类，有些病人既有疱疹样皮炎又有大疱性类天疱疮的临床、组织学和超微结构的特征。有意义的是，有些报告，不典型DH，不同于典型 DH 是用磺胺吡啶或巯类药物治疗有效。典型和不典型DH用免疫电镜证实这二类大疱性皮疹免疫荧光有所不同。

四、结缔组织疾病

经 Klemperes 等人的组织病理学研究所充分描述的红斑性狼疮，已越来越多地引起免疫学家们的注意，首先是Miescher 等人的研究。在这些疾病的病因学中，免疫现象的真正作用仍然是一个争论的课题。

一、红斑性狼疮：简介

免疫学研究不仅对盘状红斑性狼疮(DLE)，而且对 SLE 及其变型，包括硬皮病、类风湿性关节炎在内的混合性结缔组织病和其他的结缔组织病都是十分重要的(见第十六—二十二章)。

(1) 血清检查

抗核抗体(ANA)滴度和类型的意义随检查方法而异。用第二章所叙述的方法做检查，大多数活动性SLE病人在没有用免疫抑制剂时，血清ANA，通常是均质型，其滴度为160或更高。缓解期滴度降低(见第十七、十八章)。硬皮病常出现ANA升高(第十九章)，有时也见于其他结缔组织疾病。Prystowsky 等氏证实，DLE的 ANA 滴度与正常对照组区别不大。为得到正确的结果，检查正常对照血清是不可少的。

用鼠的肝、肾做免疫荧光检查，发现健康对照组(11—45%)的ANA滴度可为 40—80，其出现率随年龄而增加。脾印片所见的各种核型，在第二十章中讨论。均质型和颗粒型的特异性意义是明确的(见第十七、二十章)。

周边型表示抗DNA和抗去氧核糖核蛋白抗体(见第十七章)。这两种ANA常同时存在于同一血清中。周边型和高滴度的ANA同时出现，则高度提示 SLE。(第二十一章)。

抗天然DNA抗体对SLE更有特异性，但事实上由于在DNA的提纯过程中，天然的DNA中常混有部分变性，因而抗体对天然DNA特异性的问题就复杂化了。有几份报告指出锥虫体就是天然DNA的底质，因此只能对天然DNA的抗体起反应，而这种抗体主要对系统性红斑狼疮具有特异性。据报告约60%活动性的未经治疗的患者具有这种抗体。用其他方法研究者的报告，抗天然DNA的抗体并不限于系统性红斑狼疮，也可见于其他系统性结缔组织病，不过在系统红斑狼疮其滴度明显高于其他疾病，并在一组未经选择的，其中包括活动性和非活动性疾病的系统性红斑狼疮病人中，有70%能查出这种抗

体。两组不同的研究报告之间的差异，可能与检测抗体技术的灵敏度不同有关。

从诊断和预后的角度来看，抗核抗原(Sm)和抗核糖核蛋白(n-RNP)的抗体是重要的，这可用血细胞凝集法和免疫扩散法测出。Sm抗体可证实SLE的临床诊断因而被称做“标记抗体”；Sm抗体的存在提示预后不良。抗核糖核蛋白抗体有时见于SLE，也偶见于进行性系统性硬皮病和其他风湿性疾病，但高滴度的抗核糖核蛋白抗体是混合性结缔组织病的明显特征。它们也曾出现在一组倾向良性过程的SLE病人中。

(2) 皮肤活检标本

皮肤标本的直接IF试验对DLE或SLE均有诊断价值(第二十二章)。DLE的免疫沉淀物只发生于有损害的皮肤，而SLE无损害皮肤也可有此免疫沉淀物，常需连续切片或多次活检才能获得阳性结果。尽管这些试验尚未列入美国风湿病协会关于SLE诊断标准，但已公认作为诊断LE，特别是诊断SLE的一种有价值的辅助方法。

皮肤活检的IF检查显示特殊连续性或散在的颗粒型，或均质的IgG沉着，并常见有IgM以及各种补体成份包括C1q、C₃和纤维蛋白这些均在受累区的真皮表交界处及其下方(“免疫荧光带试验”)。真皮浅层的细胞样体常见于LE，扁平苔藓等，但这无疾病特异性。真皮附件周围，包括毛囊和血管壁内，可见到类似的沉淀物，SLE尤其如此。

沉着于核的IgG见于混合性结缔组织疾病，但有时也见于SLE和某些硬皮病病例，这些主要发生在有抗n-RNP、Sm抗体和高滴度抗核抗体的沉着物，病人首先由Tam等氏描述以后其他研究人员也有报告(见第十七、十八章)。

二、盘状红斑性狼疮

应从皮损处取活检，最好是取红斑的边缘，而不要在疤痕处取材，获得最可靠的结果，必须考虑下列因素：

(1) 应从暴露于日光的皮肤取材(大约80%是阳性结果)。

(2) 活检不应取自有水肿的损害，因为面部水肿性损害仅47%为阳性，非暴露部位皮肤的环状和水肿性损害阳性率更低。

(3) 活检应取病期至少为1—3个月的损害，短于1个月者，仅3%的损害能获得阳性结果。

(4) 应避免在有毛细血管扩张处取材。在此种损害中，能在真皮——表皮交界处查出Ig或补体者仅17%，与LE相似。有些学者对此结果还表示怀疑。

(5) 如有可能，活检应取数周内局部未用高效氟化皮质类固醇治疗的损害。若经数周这样的治疗，免疫沉淀物的检出率就明显下降(至50%或更少)。

应该强调的是已有报告荧光免疫带发生于其他皮肤病者，其中值得注意的是多形性日光疹、扁平苔藓、迟发性皮肤卟啉症和其他类型的卟啉症、环状肉芽肿、类脂性渐进性坏死、银屑病、利什曼病、麻风和其他感染、药疹、老年性角化病、鳞状细胞癌、癣和其他皮肤病。有些学者报告酒糟鼻时有相当高的阳性率。在上述疾病中所报告的百分率很不一致，关于这些发现与免疫荧光光带试验的关系有不同意见。

虽然IF带可出现在其他的皮肤病人中，但应强调，大部份DLE病人的IF带的类型很有特征性，(常为不规则的、粗糙的、颗粒状的或有时是粗大的、波浪状的和均质的)

并可被有经验的研究者所认出。

播散性DLE (DDLE) 的活检不应仅取皮损, 而且还应取未受累的暴露区皮肤以供筛选, 由于非暴露部位的结果常为阴性, 病情不严重的患者更是如此。没有受累的皮肤出现阳性结果, 则提示有SLE的可能, DDLE这一名词已造成一些混乱, 因这一名词也用于此病的内脏型。

三、系统性红斑性狼疮

虽有些学者提出系统性红斑性狼疮既要检查有损害的皮肤又要检查外观正常的皮肤, 但只有在未受累皮肤查出免疫沉淀物才对全身性受累具有诊断重要性, 所以皮损区的活检可能不必要。看来大部份活动性病例的检查结果均为阳性, 特别是取自暴露区域的活检标本, 尤以手腕背部阳性率更高。为了观察预后, 非日晒区皮肤的活检是有价值的, 因为这些区域的阳性发现通常是病情较严重的征象, 有肾脏受累, 并常伴有抗天然DNA抗体 (见第二十二章)。如表4所示, 日晒部位的皮肤标本大约80%是阳性, 而非日晒部位的阳性率仅约40%。

如果临床正常皮肤IF带所能查出的主要或唯一成份是IgM, 那么预后常较好。IgG则常与病情严重和肾脏受累有关。如果仅发现补体沉着, 应再做活检, 以确定主要的免疫球蛋白。

应强调的是, 皮质类固醇和/或免疫抑制剂的有效治疗可使真皮——表皮交界处的免疫沉淀物消失。然而虽经治疗, 如果病情仍然活动, 则大多数病例仍可查出免疫荧光带。

四、混合性结缔组织病 (MCTD)

在MCTD中普遍地出现核的IgG沉淀物。有些病例如同SLE一样, 在真皮—表皮交界处也可出现Ig和补体沉淀物 (见第十九章)。抗n-RNP抗体是MCTD最有特征性的发现, 在第16、17和18章中介绍权威作者们在此领域的观点。

五、类风湿性关节炎 (RA)

在有关节炎的病人中, 类风湿性关节炎与SLE的鉴别有时是困难的。早期SLE或硬皮病, 关节症状常为首发征象而此时诊断困难。

(1) 血清检查

作为一种初步的筛选的辅助方法, 需要做令人满意的ANA和类风湿因子 (RF) 的对照试验。类风湿性关节炎的ANA滴度通常是低的。在鼠肝脏切片上测出均质性ANA的滴度为160或更高时 (不论有无类风湿性关节炎), 则提示有SLE或系统性硬皮病的可能, 而不是单一的类风湿性关节炎, 因为高滴度的ANA在类风湿性关节炎中少见 (见第二十一章)。对有高滴度ANA的可疑病例应作进一步的适当检查。如果ANA为阴性或其滴度在正常范围内 (用鼠肝或鼠肾切片测定时, 其标准低于40时而结果为40或小于40者, 标准为40或40以上其结果为80或小于80者), 而RF滴度又明显地增高, 则类风湿性关节炎的诊断可能性最大。虽然并不能排除其他结缔组织病。

(2) 活体组织检查

DeBoer 等氏报告, 他们给39例类风湿性关节病人做IF带试验, 结果38例

阴性，1例可疑。而另一个研究报告，则120多例病人中无一例为阴性，颗粒状沉淀物，特别是血管壁内的IgM和C₃，见于大约60%的病例中。甚至在未受累的皮肤中也能看到它们。

六、硬皮病

(1) 血清检查

硬皮病抗核抗体的阳性率是高的（大约85%），ANA的形态一般是斑点型，核仁型、颗粒型。在系统性硬化症偶而可见与n-RNP和Sm抗体有关的特殊类型的抗体（见第十七——二十一章）。

硬斑病的血清检查常为阴性。条状硬皮病或泛发性硬斑病患者中，特别是儿童患者，出现有临床意义的ANA滴度者，可达20—25%。这些病例中发现的抗DNA抗体仅指向变性的、单链的DNA。

如果实验技术不使抗原产生部分变性，则不可能测到抗天然DNA的抗体。最简单、最可靠的试验似乎是锥虫体免疫荧光试验。

(2) 皮肤活检

硬皮病和硬斑病的硬化的和外观正常的皮肤做直接荧光免疫检查均为阴性。同时患硬皮病和SLE者外观正常或硬化的暴露部位的皮肤IF都是阳性（见第十九章）。Win等氏发现在称为“炎性间质性硬皮病”的病例中——MCTD的同义词，IF带完全或主要含IgM。第十六章讨论了这一有争论的问题。临床正常皮肤内的表皮细胞核IgG沉着在近期内与高滴度的ANA有关者。不仅见于MCTD，还有某些有SLE重叠症状的硬皮病病例。

七、皮肌炎

(1) 血清检查

皮肌炎极少出现ANA。血清查检特别适用于显示某些同时存在有SLE体征者。Reichlin等氏描述了一种在60%的多发性肌炎病人中呈阳性的血清反应。Wolf等氏报告另一种血清学反应，在多发性肌炎和硬皮病——皮肌炎重叠的患者中这种血清学反应60%为阳性。上述两种试验的实用价值迄今尚未确定。

(2) 皮肤活检

通常不出现IF带，但是，在皮肌炎与SLE重叠的病人中，未受累皮肤内可以出现IF带。

(3) 肌肉活检

在间质性结缔组织的血管壁上，可以出现IgM沉淀物，特别是儿童患者。在患结缔组织疾病（包括皮肌炎）的病人肌肉活检中已发现有免疫球蛋白的沉淀物。

五、血管炎

皮肤血管炎的活检标本应取早期损害，如果得不到新鲜的损害标本，可按Braverman等氏所叙方法，给变态反应性血管炎和自发性混合性冷球蛋白血症在局部注射组织胺。皮内注射含量为0.1~1.0mg/ml的组织胺溶液0.05ml。经3至4小时，在注射部位

的中央可作 3 至 5 mm 深的钻孔活检，在这样的标本内，常可在血管壁上或其周围发现 IgG、IgM、IgA 的沉淀物和补体，但结果并不总是阳性。

一、变态反应性（白细胞碎裂性）血管炎

活检应在非损害处取材，邻近区可显示极早期的变化。因为在高度发展的损害中查不到免疫沉淀物（见第二十六章）虽以 IgM 沉着为主，但免疫球蛋白类别不定。（Schonlein-Henoch）许兰-亨诺氏综合群则以 IgA 沉着为主，或只有 IgA 加补体。

二、原发性混合性冷球蛋白血症

在血管壁上有与循环中冷凝素同类的免疫球蛋白和补体。主要靠测定循环中的冷凝素来诊断原发性混合性冷球蛋白血症。

三、结节性动脉周围炎

有些病例的血管壁上能测出免疫球蛋白和补体。但典型病例的 IF 检查结果可为阴性，因为免疫复合体被多形核白血球除去，或其发病学与免疫机制无关。用特别的结合血清在血管壁上可以发现澳大利亚抗原（HB 病毒），和免疫球蛋白同时存在，推测是由于特异的抗体与抗原结合之故。

四、血管炎青斑

在血管壁上主要是或纯粹是 IgM 的免疫沉着物是此病的特点。此外，也可出现几种补体成分包括 C1q、C₃、C₄、C₅、纤维蛋白和备解素。淋巴细胞浸润是此型血管炎的最有特征性的表现。

六、有阳性荧光免疫现象的其他皮肤病

一、迟发性皮肤卽淋症和其他类型的卽淋症

荧光免疫检查有诊断价值的，不仅有迟发性卽淋症，而且对红细胞生成性卽淋症、间歇性卽淋症和混合型卽淋症都有诊断价值。

活检应取自暴光皮肤，以手背皮肤为宜。在活动性病例中，血管壁上和其周围能发现一种均质型的免疫球蛋白和其他血浆蛋白。约 50% 的病人还可出现一种均质型或颗粒型 IF 带（见第二十五章）。

二、扁平苔藓

活检可取任何损害，病程久的损害更合适。

荧光免疫试验显示在表皮真皮交界处的表皮内和真皮浅层有特有的细胞样体，它们由各种类型的免疫球蛋白、补体、蛋白质和纤维蛋白构成，通常真皮内的细胞样体比表皮内的大些，活动期较非活动期更多见。细胞样体无病种特异性，可见于各种不同的皮肤病中（LE、皮炎、多形红斑、类天疱疮、固位药疹等），也偶见于正常皮肤。虽然细胞样体甚至对不典型的脱屑性牙龈炎都有诊断价值，但在粘膜损害处的发生率较

皮肤损害的发生率低些。

有些学者发现扁平苔藓的基底膜区有颗粒型或均质型的免疫沉淀物，它与LE的IF带或大疱性类天疱疮的线状沉淀物非常相似。在此处常可查出一条纤维蛋白带。近来已经发现天疱疮样扁平苔藓的血液和活检的免疫现象与大疱性类天疱疮是一致的(见第九、十一章)。是否在所有的临床病例中都有类似的免疫学发现，仍有待确定。

三、银 屑 病

活检应取针尖大小至完全形成的损害。活检标本应包括银屑病鳞屑才能做有效的研究，免疫球蛋白，主要是IgG和补体存在于银屑病鳞屑的角质层，其形态是典型的。几个方面的证据提示这是由于抗角质层的自身抗体在体内的反应所致，所有正常血液内都有这些抗体，而且认为是在正常情况下协助清除损伤的角质层的(见第六章)。在正常的皮肤中，查不到免疫沉淀物(见第二十四章)。

虽然“银屑病型”免疫沉淀物经常存在银屑病损害中，但它不是疾病特异性的。如在其他皮肤病时角质层内有此免疫沉着物，就可能与银屑病型组织学改变有关。现已掌握的证据表明，银屑病鳞屑内典型的免疫球蛋白和补体沉淀物的多少，可能对预后有一定的意义。

四、药 物 反 应

某些皮肤变应性药物反应的病人，其血清内有高滴度的抗表皮基底细胞层的胞浆成分的抗体，此种抗基底细胞胞浆(BCC)抗体似乎具有“器官特异性”，而不具有“种属特异性”。用直接免疫荧光试验检查大多数病例，未能在基底细胞的部位显示体内固定的抗BCC抗体。值得注意的是，少数大疱性类天疱疮或天疱疮病人间接免疫荧光检查发现抗BCC抗体和抗BMZ抗体或抗BCC抗体和抗细胞间物质抗体同时存在。抗BCC抗体的发生并不象大疱性类天疱疮和天疱疮一样与严格的临床和组织学的综合征有关。

缪志辉译 易 凡校

第二章 规范免疫荧光方法：基本概念及其在免疫皮肤病学的应用

本章陈述从皮肤活检标本、血清和生物性液体的可重复免疫荧光研究操作方法。在某种范围来说作活检标本检查的实验室与作血清检查的实验室有所不同；例如一个附属与皮肤病诊室的小实验室，每周5~30个活检标本的荧光免疫检查应能精确地检查这些标本，但这样的实验室常常不具备足够数量的血清以维持试验的精确性。况且，每周处理不到10~20份血清标本，其固定设备的成本使其在经济上不合算。在这种情况下，血清标本可送至专门进行大量血清检查的实验室。

一、用于免疫皮肤病学的免疫荧光检查的本质

免疫荧光检查的基本技术和应用在许多论丛中作过详细讨论，这里不作复习。

在原理上，荧光素是一种高共振分子，因而是一种强荧光的化合物。在不到10毫微克（ng）/毫升浓度的溶液中因其呈黄绿色的荧光而得以查出，其峰值浓度为520Å。它与蛋白质或其他含有自由氨基酸的化合物在硷性溶液中与异硫氰基荧光素（FITC）混合后能以共价键相结合形成脲基键，用这种方法标记的抗体或抗原仍然保持其原来的生物活性，因而使免疫荧光技术在广泛的免疫学研究领域中具备了一种极有价值的试剂，实际上，有许多种荧光免疫反应，如果未把所有参加反应的物质予以适当的确定，对于各种反应的解释就会产生混乱。

进行皮肤活检研究：1）选择适合的活检部位，每个部位采取直径为3~5毫米的钻孔活检组织，然后将活检标本放在运输液中或作快速冰冻（见第一章）。2）用适当标记的抗体处理切片，用直接免疫荧光进行免疫球蛋白、补体成分和纤维蛋白元沉着物的免疫组织学检查（见下文用免疫荧光进行皮肤活检一节）。

对各种发现结果的解释要求对所有大疱性疾病（见1,7,9,15章），结缔组织疾病、免疫复合物疾病（见19、22章）、血管炎（见25、26章）和在角质层的各种反应（见24章）的有关反应类型有明确的理解，并且要求在比较病理性自身抗体指向可被影响的抗原反应和生理性自身抗体指向正常时不发生反应或处于隐蔽的抗原的反应时，对其本质有所理解。以上是基本的要求，并且在实际工作中是非常重要的。

直接免疫荧光对活检组织的研究比免疫酶技术有许多优点。免疫荧光方面有较多的知识有利于对试验结果进行解释。因它对作试验的反应剂能较好地进行定量，所以是一种较为可靠的测定方法。而且这些试验对操作时间和反应剂都耗费不大。但免疫荧光试验不像用过氧化酶染色那样能长期保存，现在使用较新的技术可使免疫荧光试验的结果保存数周。作为对电子显微镜对超微结构的抗原或抗体定位则选用免疫酶染色。（见第四章）。但方法学上尚未完全规范化。

用几张皮肤活检标本的冰冻切片用苏木紫—伊红染色对直接免疫荧光试验的解释常有帮助，但不能代替（供常规组织检查的）福尔马林固定和石蜡包埋切片。

病人血清的间接免疫荧光检查组织抗体要求使用下列方法：

A. 冰冻切片形式的各种组织抗原（见下文正常组织抗原处理一节），或在显微镜玻片上的细胞印片（见第20章）。

B. 对每批病人待测血清都要准备阳性和阴性对照，即一系列已知滴度阳性对照血清不同稀释度和一份不含反应性自身抗体的阴性对照血清处理的组织抗原。

C. 然后用已知抗体浓度和荧光素/蛋白（F/P）克分子比的抗人IgG或在某些情况下用IgA或IgM的荧光标记抗体按选择稀释度在组织标本上孵育（见用间接免疫荧光法检查血清节）。

同处理活检标本一样，用荧光显微镜识读试验结果，然后报告反应的染色结构特性和滴度。病人血清在猴食道切片作天疱疮和类天疱疮抗体检查能提供极有价值的资料（见3,7,12章）。对结缔组织疾病，间接免疫荧光在鼠肝切片（第21章）或脾印片（第20