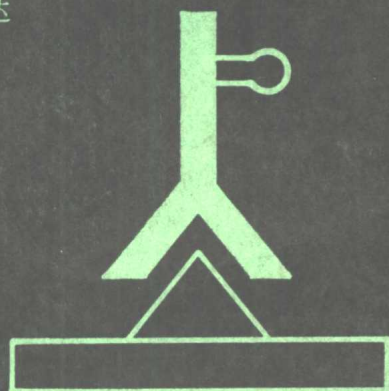


皮肤病的免疫荧光 技术与模式

〔美〕 R. 瓦伦苏埃拉
W. F. 伯格菲尔德 著
S. D. 迪奥达



沈 力 译
陈孟录

R750.3
SL

119225

大学
联合出版社

联合出版社

皮肤病的免疫荧光技术与模式

R. 瓦伦苏埃拉

W.F. 伯格菲尔德 著

S.D. 迪奥达

沈 力 陈孟录 译

刘季和 李世荫 审校

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

内 容 提 要

免疫荧光技术是皮肤病的诊断与鉴别诊断的重要手段。本书作者根据皮肤病不同的免疫荧光检查所见，整理归纳为不同模式，并解释这些模式在疾病诊断与鉴别诊断上的意义，十分实用。

INTERPRETATION OF IMMUNOFLUORECENT PATTERNS IN SKIN DISEASES

R. Valenzuela, W.F.Bergfeld & S.D.Deodhar
American Society of Clinical Pathologists Press, 1984

皮肤病的免疫荧光技术与模式

R. 瓦伦苏埃拉等著

沈 力 陈孟录 译

责任编辑：梁 康

北京医科大学联合出版社出版
中国协和医科大学

(社址：北京医科大学院内)

新华书店总店科技发行所发行 各地新华书店经销

北京怀柔燕东印刷厂印刷

开本：787×1092 1/32 印张：5.25 字数：117千字
1991年 8 月第1版 1991年 8 月第1次印刷 印数：1-5000册

ISBN 7—81034—070—0/R·70 定价：3.55元

序

当前免疫荧光技术的应用，已日益普及，不仅对某些皮肤病的科研十分重要，而且临床上对某些皮肤病的诊断与鉴别诊断也是一种必不可少的手段。以往20多年文献中对各种皮肤病免疫荧光检查所见均已有了大量报导，近年来在各种书籍中对某些皮肤病的免疫学所见也有了相当详尽的介绍；但迄今为止，对各种免疫性皮肤病的不同免疫荧光模式特点，尚缺乏比较实用而通俗易懂的指南。

原书作者积累多年临床及实验室的经验，参考众多著名学者的论文编写了这本实用指南，可以为读者提供各种皮肤病不同免疫荧光检查所见，整理、归纳成不同模式，并详细介绍这些模式在疾病诊断与鉴别诊断上的意义，非常实用，可供各级皮肤科、免疫科及病理科工作者及医学生和检验人员工作中学习参考。因此，本书对我国皮肤病免疫荧光与免疫病理知识的普及与提高，将会起着深远影响。

刘季和

1990. 12. 22於南京

引言

以往二十多年中，免疫学领域有迅速进展。不仅对免疫反应基本机制有了进一步了解，而且就免疫学原理和技术在临床医学各个学科的应用方面也有很大发展。这对皮肤病的研究，不论是在临床、还是在实验室方面，均大有裨益。许多皮肤病的发病机理与免疫学机制密切相关，因而临床免疫学实验室的各种技术，包括直接、间接免疫荧光、琼脂扩散、凝集反应以及放射免疫测定，对这些疾病的诊断和治疗日趋重要。

现已公认，要圆满地评价结缔组织病、大疱性疾患及其它皮肤病的皮肤活检标本，必须用直接免疫荧光检查，来证实组织内所结合的免疫球蛋白、补体成分和其它免疫反应物。用间接免疫荧光方法来分析病人血清，寻找循环自身抗体也是必要的。在某些皮肤病中，其独特的免疫荧光模式已被公认，临床与免疫学相关性已得到重视。尤其是将直接和间接免疫荧光试验的结果与临床表现结合起来分析时，这些模式经常有诊断价值，或者提供鉴别诊断的重要线索。从事皮肤活检标本的实验室工作者，必须熟悉免疫显微技术，才能正确处理这些标本，从而获得圆满的阐明。

这本书收集了为阐明某些皮肤病免疫应答的基本机制所设计的图解，免疫显微技术的原理和技术，以及特异和非特异的荧光模式。重点在于特异性免疫荧光模式的分类和检

测，以及这些模式在临床与免疫病理之间的相互关系。从实用角度出发，我们着重介绍普通临床实验室常用的抗血清所观察到的免疫荧光结果。应用其它一些特异抗血清虽然对诊断无何帮助，但对某些疾病的发病机制可能得到更多资料。同样，我们还介绍了一些与临床免疫病理学有关和实用的临床和组织病理学改变。

目 录

引言.....	(1)
1. 机制.....	(1)
2. 技术.....	(10)
3. 准则.....	(19)
4. 非特异性荧光和自发荧光.....	(21)
5. 大疱性类天疱疮	
免疫荧光模式: 沿表皮-真皮交界面(基底膜带)的弥漫性、线状荧光	(23)
6. 瘢痕性类天疱疮	
免疫荧光模式: 汗腺基底膜 线 状 荧 光.....	(34)
7. 寻常型天疱疮	
免疫荧光模式: 表皮细胞间质内弥漫性和灶 性 荧 光.....	(37)
8. 红斑型天疱疮	
免疫荧光模式: 表皮 细胞 间质 内 荧光伴有沿表皮-真皮交界面(基底膜带)的颗粒状荧光	(49)
9. 红斑狼疮: 免疫组织病理学	
免疫荧光模式: 沿表皮-真皮交界面 (基底膜带) 的弥漫性或灶性、细颗粒状荧光	(55)
10. 红斑狼疮: 抗核抗体	
免疫荧光模式: 毛囊内表皮-真皮交界处灶性、细颗粒状荧光.....	(69)
11. 混合性结缔组织病	
免疫荧光模式: 表皮细胞核内荧光	(83)
12. 疱疹样皮炎	

	免疫荧光模式: 真皮乳头层内灶性, 细颗粒至粗颗粒状荧光·····	(87)
13.	白细胞碎裂性血管炎	
	免疫荧光模式: 血管壁内颗粒状荧光·····	(99)
14.	卟啉病	
	免疫荧光模式: 血管荧光伴有表皮-真皮交界面荧光·····	(107)
15.	扁平苔藓	
	免疫荧光模式: 真皮乳头层内弥漫性或灶性、球状荧光 (许多沉积物) ·····	(115)
16.	药疹	
	免疫荧光模式: 真皮乳头层内灶性、球状荧光 (很少沉积物)·····	(122)
17.	皮肤巨球蛋白病	
	免疫荧光模式: 真皮内弥漫性至灶性、均质性荧光·····	(127)
18.	复发性多软骨炎	
	免疫荧光模式: 软骨纤维交界处粗颗粒状荧光·····	(132)
19.	多形红斑	
	免疫荧光模式: 真皮免疫细胞内细胞浆荧光·····	(136)
20.	银屑病	
	免疫荧光模式: 角层内灶性荧光·····	(142)
附:	幻灯片目录及说明·····	(146)

1 机 制

所有免疫活性细胞的前体（干细胞）均来源于骨髓。就淋巴样细胞而言，其前体具有两条不同的成熟途径。一组在胸腺的影响下，表现为胸腺依赖细胞或T细胞，与细胞免疫有关。另一组在与腔上囊相同结构的淋巴样组织的影响下，形成B淋巴细胞，和体液抗体中各种免疫球蛋白的产生有关。

当前，许多皮肤病的发病机理看来与这两条途径都有关。¹ 关于皮肤病体液免疫损伤，已进行了广泛的研究。虽然对细胞免疫机制的了解进展较少，但在有关的几种皮肤病中，细胞介导的免疫损伤的重要性在增高。T和B细胞并不单独行使功能；T辅助和T抑制细胞对B细胞行使调节功能。作为异常免疫反应产生的组织损伤，涉及补体系统、针对体液抗体的激肽系统、以及针对细胞介导免疫损伤的淋巴因子系统等效应器的作用过程。

体液抗体和免疫复合物对皮肤损伤的介导作用已广为人知。体液机制包括循环免疫复合物在皮肤内的捕获和沉积，以及由于循环自身抗体同特定皮肤成份的反应所造成的损伤。在某些验明有免疫球蛋白和补体成份的疾患，如卟啉病、扁平苔藓、银屑病和其它疾病中，沉积的意义未明。在某些皮损，损伤是由同种亲细胞性IgE抗体所介导的（如荨麻疹），有的是细胞介导的免疫反应所引起的（如接触性皮

炎)。对于后一组, 免疫荧光技术临床上还不实用, 而其相关的反应在这本书中, 就不顾及了。

在对外源性或内源性抗原反应中生成的免疫复合物, 进入循环中并被捕集和沉积在皮肤有选择的部位, 在血管壁内以及沿表皮-真皮交界面, 紧贴基底膜之下。各种皮肤血管炎疹、红斑狼疮以及疱疹样皮炎, 可能与这种沉积机制有关。在肾脏疾病中, 免疫复合物的物理化学性质及其致病机理已有广泛研究, 而在皮肤疾患中尚未做到。² 在皮肤病中, 免疫复合物的沉积是否由那些不同于肾脏病的机制所支配还不清楚, 但一些试验的方法已可用于诊察这一问题。

如果免疫复合物激活补体系统, 释放各种炎症介质, 最终结果是免疫损伤。³⁻⁵ 新近已证实: 在真皮血管的内皮和平滑肌层有补体受体 (C3b), 而表皮-真皮交界面则缺如。⁶ 这些C3b受体在皮肤血管炎免疫复合物的定位上可能有作用。然而, 在体外, 在没有免疫复合物或自身抗体的情况下, 也可出现补体成分激活并与皮肤各种结构结合。⁷

在Arthus反应和血清病的动物模型中, 已证实在皮肤血管炎发病中循环免疫复合物的作用。⁸ 新西兰黑色/新西兰白色 (NZB/NZW) 杂交小鼠发生一种类似人类系统性红斑狼疮的自身免疫病, 也包括沿表皮-真皮交界面出现免疫复合物。^{9、10} 就这些免疫复合物定位而论, 一个可能的发病机制是: 抗原DNA先结合到真皮胶原上, 接着同循环抗DNA抗体发生反应。¹¹ 已发现NZB/NZW鼠皮肤内沉积的免疫复合物频度上的局部差异, 是和用放射自显影检测的基底细胞DNA合成率的局部差异相关的。¹²

除在肠内捕获预先形成的循环免疫复合物外，¹³ 血循环中小麦麦胶蛋白同真皮网状纤维的结合及循环麦胶蛋白IgA抗体继发的沉积，可能与疱疹样皮炎皮损的产生有关。^{14、15} 疱疹样皮炎病人的血清，既含有高水平的IgA免疫复合物，又含有高水平的麦胶抗体。^{16、17}

抗皮肤基底膜带的自身抗体在皮肤病中可能有致病作用。通过十二烷基硫酸钠凝胶电泳显示，在基底膜带内的抗原，一部分为具有两个主要成分特性的蛋白质，一个在分子量9,200区域，另一个在20,000区域。¹⁸ 用间接免疫荧光法，见到这种抗原可在体外由表皮基底细胞合成。^{19、20}

诱发自身抗体的机制了解得还不很清楚。然而，已知特异性的自身抗体被释放进入循环，同特定部位的抗原起反应，激活补体系统，并引起局部免疫损伤。大疱性类天疱疮皮损的产生属于这种机制。在该病中，用间接免疫荧光技术，可检测出循环自身抗体。²¹ 类天疱疮抗体在体外并不引起表皮下水疱，²² 然而在补体存在下，它们可以介导白细胞趋化性并粘附到表皮-真皮交界面上。^{23、24} 在大疱性类天疱疮和系统性药物反应病人的水疱液中，发现一种低分子量的嗜酸细胞趋化因子（小于500道尔顿）。²⁵ 细胞化学超微结构的研究提示：由嗜酸细胞、偶尔是巨噬细胞所释放的蛋白分解酶，在大疱性类天疱疮水疱形成的早期可能起致病的作用。²⁶

抗表皮细胞间质的自身抗体可能引起相邻角朊细胞粘附的缺陷（棘层松解）。在某些棘层松解疾患，如寻常性天疱疮中免疫损伤，其抗原是具有分子量68,000道尔顿的蛋白质，并可能与表皮细胞膜的硫氢基残基有直接关系。^{27、28} 天

疱疮抗原可能不同于伴刀豆蛋白A-反应性表皮抗原(Con-A-reactive epidermal antigens) 和A-血物质(A-blood substance)。²⁹天疱疮抗原可以在人类表皮细胞培养中合成。^{30,31}

重复一下,在棘层松解中,自身免疫损伤的机制还不太了解。免疫损伤包括激活补体系统、产生细胞间桥(桥粒)的破坏和棘层松解。然而,近来的实验显示,在体外没有外源性补体的条件下,用特异IgG自身抗体孵育人类皮肤,可诱发棘层松解。³²⁻³⁴这种诱导现象取决于剂量。³⁵自身抗体可以导致表皮细胞去激活细胞蛋白酶(至少包括两型不同的酶),³⁵而后者可降解细胞的糖皮膜,引起细胞粘着不良和棘层松解。³⁶⁻³⁹在这些棘层松解疾患中,通过间接免疫荧光可检测出循环自身抗体。⁴⁰

动物模型可帮助我们了解天疱疮的发生。狗可天然地发生天疱疮。⁴¹把天疱疮病人的血清或淋巴细胞被动转移到接受了人类组织移植物的无胸腺裸鼠,也是有用的天疱疮模型。⁴²其它的有关皮肤病免疫病理发生机制资料,将在疾病讨论部分介绍。

References

1. Fellner MJ, *Immunology of Skin Diseases*. New York, Elsevier, 1980.
2. Mannik M, Physiochemical and functional relationships of immune complexes. *J Invest Dermatol* 1980; 74, 333-338.
3. Gigli I, The complement system; Mechanisms of action, biology, and participation in dermatologic diseases, in Safai B, Good RA (eds): *Immunodermatology*, vol

1. in *Comprehensive Immunology*. New York, Plenum Medical Book Co, 1981, pp 65-100.

4. Jordon RE, Provost TT; The complement system and the skin, in Malkinson R, Pearson RA (eds) ; *Yearbook of Dermatology*. Chicago, Year Book Medical Publisher, 1976, pp 3-37.

5. Gammon WR; Phagocyte chemotaxis. *J Invest Dermatol* 1979; 73: 515-520.

6. Thyresson HN, McDuffie FC, Schroeter AL; C3b receptor in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1981; 77: 353-357.

7. Hintner H, Stingl G, Schuler G, et al; In vitro complement-binding on cytoplasmic structures in normal-human skin; I. Immunofluorescence studies. *J Invest Dermatol* 1982; 79: 119-124.

8. Cochrane CG, Dixon FJ; Antigen-antibody complex induced disease, in Miescher PA, Müller-Eberhard HJ (eds) ; *Textbook of Immunopathology*, ed 2. New York, Grune & Stratton Inc, 1976, vol 1, pp 137-156.

9. Burnet FM, Holmes MC; The natural history of the NZB/NZW_F₁ hybrid mouse; A laboratory model of systemic lupus erythematosus. *Aust Ann Med* 1955; 14: 185-191.

10. Gilliam JN, Hurd ER, Ziff M; Subepidermal deposition of immunoglobulins in NZB/W _F₁ hybrid mice. *J Immunol* 1975; 114: 133-137.

11. Gilliam JN; DNA binding to normal skin connective tissue as a localizing factor for DNA; AntiDNA complexes, abstracted. *Arthritis Rheum* 1977; 20: 117-118.

12. Sontheimer RD, Gilliam JN; Regional variation in the deposition of subepidermal immunoglobulin in

NZB/WF₁ mice; Association with epidermal DNA synthesis. *J Invest Dermatol* 1979; 72: 25-28.

13. Seah pp, Fry L, Stewart JS, et al; Immunoglobulins in the skin in dermatitis herpetiformis and celiac disease. *Lancet* 1972; 1: 611-614.

14. Unsworth DJ, Johnson GD, Haffenden G, et al; Binding of wheat gliadin in vitro to reticulin in normal and dermatitis herpetiformis skin. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 88-93.

15. Katz SI, Strober WS; The Pathogenesis of dermatitis herpetiformis. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 63-75.

16. Zone JJ, LaSalle BA, Provost TT; Circulating immune complexes of IgA type in dermatitis herpetiformis. *J Invest Dermatol* 1980; 75: 152-155.

17. Menzel EJ, Pehamberger H, Holubar K; Demonstration of antibodies to wheat gliadin in dermatitis herpetiformis using ¹⁴C radioimmunoassay. *Clin Immunol Immunopathol* 1978; 10: 193-201.

18. Diaz LA, Calvanico NJ, Tomasi TB, et al; Bullous pemphigoid antigen; Isolation from normal human skin. *J Immunol* 1977; 118: 455-460.

19. Woodley D, Didierjean L, Regnier M, et al; Bullous pemphigoid antigen synthesized in vitro by human epidermal cells. *J Invest Dermatol* 1980; 75: 148-151.

20. Grekin PM, Levy GN, King AJ, et al; Some biochemical properties of pemphigoid antigen bound to the surface of dissociated epidermal basal cells. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 190-192.

21. Jordon RE, Beutner EH, Witebsky E, et al; Basement-zone antibodies in bullous pemphigoid. *JAMA* 1967; 200: 751.

22. Pehamberger H, Gschnait F, Konrad K, et al: Bullous pemphigoid, herpes gestationis and linear dermatitis herpetiformis. Circulating anti-basement membrane zone antibodies; in vitro studies. *J Invest Dermatol* 1980; 74: 105-108.

23. Gammon WR, Lewis DM, Carlo JR, et al: Pemphigoid mediated attachment of peripheral blood leukocytes at the dermal-epidermal junction of human skin. *J Invest Dermatol* 1980; 75: 334-339.

24. Gammon WR, Merritt CC, Lewis DM, et al: Leukocyte chemotaxis to the dermal-epidermal junction of human skin mediated by pemphigoid antibody and complement. Mechanism of cell attachment in the in vitro leukocyte attachment method. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 514-522.

25. Dierksmeier U, Frosch PJ, Czarnetzki BM: Eosinophil chemotactic factor (ECF) in blister fluid of dermatological diseases. *Br J Dermatol* 1980; 102: 43-48.

26. Dubertret L, Bertaux B, Fosse M, et al: Cellular events leading to blister formation in bullous pemphigoid. *Br J Dermatol* 1980; 104: 615-624.

27. Shu SY, Beutner EH: Isolation and characterization of antigens reactive with pemphigus antibodies. *J Invest Dermatol* 1973; 61: 270-276.

28. Ogawa H, Taneda A, Morioka S: Characterization of pemphigus antigen. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 194-196.

29. Rule AH, Schmidt-Ullrich B, Kirch M, et al: Partial purification of pemphigus-related epidermal antigens. *J Invest Dermatol* 1978; 71: 412-416.

30. Stanley JR, Hawley-Nelson P, Poirier M, et al: D-

etection of pemphigoid antigen, pemphigus antigen, and keratin filaments by indirect immunofluorescence in cultured human epidermal cells. *J Invest Dermatol* 1980; 75: 183-186.

31. Woodley D, Saurat JH, Prunieras M, et al: Pemphigoid, pemphigus and Pr antigens in adult human keratinocytes grown on nonviable substrates. *J Invest Dermatol* 1982; 79: 23-29.

32. Schiltz JR, Michel B: Production of epidermal acantholysis in normal human skin in vitro by the IgG fraction of pemphigus serum. *J Invest Dermatol* 1976; 67: 254-260.

33. Deng J, Beutner EH, Shu S, et al: Pemphigus antibody action on skin explants, Kinetics of acantholytic changes and stability of antigens in tissue cultures of normal monkey skin explants. *Arch Dermatol* 1977; 113: 923-926.

34. Hu C-H, Michel B, Schiltz JR: Epidermal acantholysis induced in vitro by pemphigus autoantibody. An ultrastructural study. *Am J Pathol* 1978; 90: 345-362.

35. Morioka S, Naito K, Ogawa H: The pathogenic role of pemphigus antibodies and proteinase in epidermal acantholysis. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 337-341.

36. Farle RM, Dykes R, Lazarus GS: Anti-epidermal-cell surface pemphigus antibody detaches viable epidermal cells from culture plates by activation of proteinase. *Proc Natl Acad Sci* 1978; 75: 459-463.

37. Schiltz JR, Michel B, Papay R: Appearance of pemphigus acantholysis factor' in human skin cultured with pemphigus antibody. *J Invest Dermatol* 1979; 73: 575-581.

38. Schiltz JR: Pemphigus acantholysis: A unique immunologic injury. *J Invest Dermatol* 1980; 74: 359-362.

39. Singer KH, Sawka NJ, Samowitz HR, et al: Proteinase activation: A mechanism of cellular dyshesion in pemphigus. *J Invest Dermatol* 1980; 74: 363-367.

40. Beutner EH, Jordon RE: Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining. *Proc Soc Exp Biol Med* 1984; 117: 505-510.

41. Hurvitz AI: Animal model, Canine pemphigus vulgaris. *Am J Pathol* 1980; 98: 861-864.

42. Buschsrød K, Dabelsteen E, Bretlau P: A model for the study of autoimmune diseases applied to pemphigus: Transplants of human oral mucosa to athymic nude mice binds pemphigus antibodies in vivo. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 171-173.