

# 免疫组化方法在检测肾淀粉样变中的应用

赖英荣\*, 刘俊峰, 谢文林, 聂钊铭  
(中山大学附属第一医院病理科, 广东 广州 510080)

**摘要:** 【目的】探讨应用甲基紫染色、刚果红染色和免疫组化 3 种方法检测 38 例不同类型的肾淀粉样变的效果。【方法】将 38 例肾标本常规处理后,分别用甲基紫、刚果红染色和免疫组化 3 种方法进行检测,统计检测结果并分析。【结果】甲基紫染色能够准确检测肾淀粉样变,但不能进行分型,且需及时观察;刚果红染色能够准确检测肾淀粉样变,联合氧化后的刚果红染色能够区分 AA 型与 AL 型淀粉样变;免疫组化检测能够准确检测肾淀粉样变,并对其进行分型,AA 型 SAA 蛋白阳性,AL 型 kappa 和 lambda 蛋白阳性。【结论】3 种方法均能准确检测肾淀粉样变,而刚果红染色和免疫组化能够进一步分型,建议临床上将刚果红染色和免疫组化联合应用,以利于淀粉样变的诊断及确定分型,同时避免试剂和人为操作等造成的误诊和漏诊。

**关键词:** 肾淀粉样; 变甲基紫; 刚果红; 免疫组化

**中图分类号:** R692      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1672-3554(2014)06-0897-04

## Pathological Comparison of Three Methods on Renal Amyloidosis

LAI Ying-rong\*, LIU Jun-feng, XIE Wen-lin, NIE Zhao-ming

(Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】To explore effect of methyl violet dyeing, Congo red staining and immunohistochemical method on the 38 cases of renal amyloidosis. 【Methods】38 cases of tissue samples after conventional treatment were respectively stained with methyl violet and Congo red staining and immunohistochemical method, and were analyzed by statistical method. 【Results】methyl violet dyeing can accurately detect renal amyloidosis, but cannot be parting the type, and need timely observation; Congo red staining can accurately detect renal amyloidosis, and can separate AA type and type AL amyloidosis; Immunohistochemical detection can accurately detect renal amyloidosis, and carries on the classification. 【Conclusion】All these methods can accurately detect renal amyloidosis, Congo red staining and immunohistochemical can further classification. Combination of Congo red staining and SAA immunohistochemistry can accurately detect renal amyloidosis, avoid misdiagnosis caused by reagent or human operation.

**Key words:** renal amyloidosis; methyl violet dyeing; Congo red staining; immunohistochemistry

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(6): 897-900]

淀粉样变性(amyloidosis)是一种由淀粉样蛋白质沉积造成的疾病,可沉积于多个器官及组织,沉积于肾脏引起的肾病称为肾淀粉样变性<sup>[1-2]</sup>。在临床上,肾淀粉样变多表现为蛋白尿、肾病综合征等<sup>[3-4]</sup>,也会有不典型的临床表征<sup>[5-6]</sup>,通常结合病理检测进行诊断。目前,病理检测主要是以甲基紫染色和刚果红染色为主,也有免疫荧光和免疫组化等。本研究主要是比较这些方法检测肾淀粉样

变的效果,找寻一种更为准确的方法,从而提高病理及临床诊断肾淀粉样变的准确性。

## 1 材料与方法

### 1.1 病历资料

选取 2012 年 1 月至 2014 年 1 月于中山大学第一附属医院行穿刺活检并诊断为淀粉样变的肾

收稿日期:2014-10-15

基金项目:国家自然科学基金(81272855)

作者简介:赖英荣,本科,副主任技师,E-mail:laiyr@126.com

组织 38 例,其中 5 例为无肾淀粉样变组织,作为对照。所有组织均已制作为石蜡蜡块,恒温恒湿保存。

## 1.2 试剂

SAA 抗体、kappa 抗体与 lambda 抗体来自于罗氏公司(美国);ABC 试剂盒、EnVision™ FLEX+ Rb (LINKER)试剂盒和 DAB 显色试剂盒来自于 DAKO 公司(丹麦);甲基紫染色液与刚果红染色液来自于 Sigma 公司(美国),其他试剂自配。

## 1.3 甲基紫染色

将组织制作成切片,厚度 3 ~ 5  $\mu\text{m}$ ,常规脱蜡至水,甲基紫染色液 2 min,水洗。然后用 10 g/L 醋酸水溶液分化 30 s,水洗后,浸入饱和氯化钠溶液中 5 min,缓冲甘油封片。

## 1.4 刚果红染色

将组织制作成切片,厚度 3 ~ 5  $\mu\text{m}$ 。然后将切片一式两份,一份常规脱蜡至水,刚果红染色 30 min,水洗 5 min,2 g/L 氢氧化钾乙醇液分化,显微镜下观察分化程度。分化完成,立即水洗, Mayer 苏木精染色液浸染 5 min,水洗、脱水、透明后,封片。另一份常规脱蜡至水后,先于酸性高锰酸钾溶液中处理 10 min,然后按上述步骤进行染色。

## 1.5 免疫组化检测

将组织制作成切片,厚度 3 ~ 5  $\mu\text{m}$ ,经脱蜡、水化、修复等常规步骤后,用 SAA 抗体(1:100)、kappa 抗体(1:200)和 lambda(1:100)抗体孵育 1 h 后,用 EnVision™ FLEX+ Rb (LINKER)孵育 20 min,再用 HRP-复合物孵育 40 min,然后 DAB 显

色,苏木精染核,封片。

## 1.6 数据收集与处理

所有染色后的玻片均通过 Olympus 光学显微镜进行观察,应用相应的拍摄系统拍照后,进行数据分析。

# 2 结果

## 2.1 甲基紫染色

对 38 例组织标本行甲基紫染色,33 例检测出淀粉样变,5 例阴性对照均未检测出淀粉样物质。光镜下观察,肾组织整体着色,肾小动脉壁、肾小管和肾间质等部位均呈紫色,但深浅不一;肾细胞胞质呈淡紫色,细胞核呈深蓝色或紫蓝色(图 1A)。正常肾小球呈紫色,其内细胞结构正常,细胞核呈深蓝色;肾小球病变部位呈“淡红色”,细胞结构破坏,无细胞核着色(图 1B)。

## 2.2 刚果红染色

33 例病变组织标本经刚果红染色后,肾小管、肾小球等部位结构清晰,阳性反应呈橙红色,主要在肾小动脉壁、肾小管和肾间质等部位;肾细胞胞质有不同程度着色(图 2A、B)。无病变部位呈淡红色或不着色,与病变部位反差明显,易分辨。5 例阴性对照组织呈阴性,无着色。

病变的 33 例组织经酸性高锰酸钾处理及刚果红染色后,9 例组织呈阴性,为 AA 型淀粉样变。组织绝大部分区域不着色,肾小动脉壁少部分轻微着色(图 2C)。24 例组织呈阳性,为 AL 型淀粉样变。

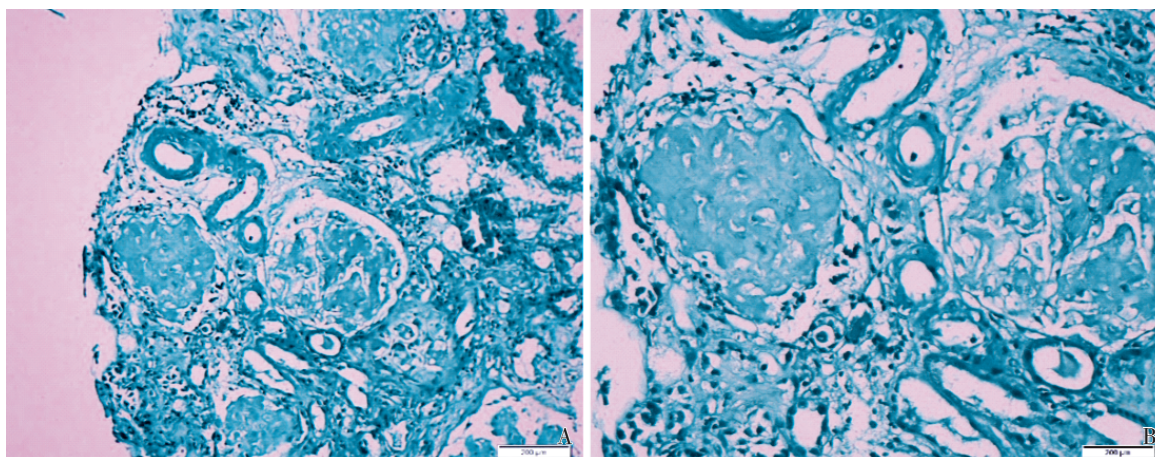


图 1 肾淀粉样变甲基紫染色结果

Fig.1 The results of methyl violet dyeing on the renal amyloid

A: Methyl violet dyeing (200 $\times$ ); B: Methyl violet dyeing (400 $\times$ )

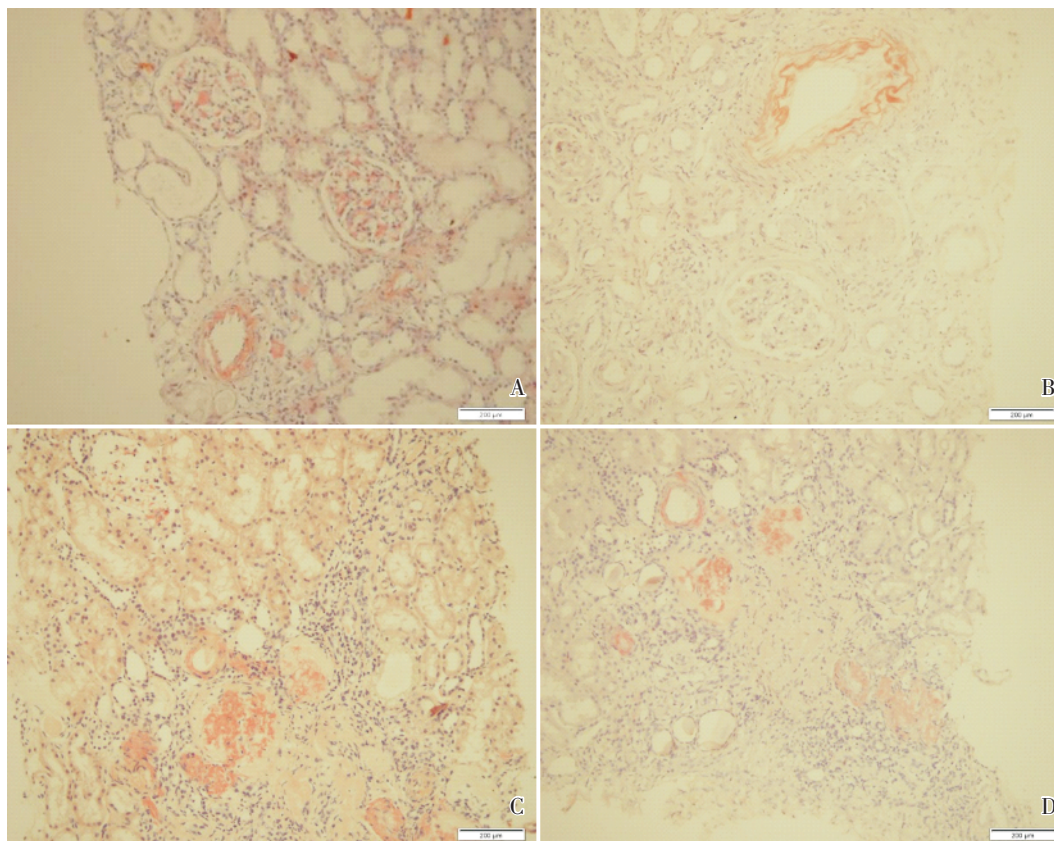


图 2 肾淀粉样变刚果红染色结果

Fig.2 The results of Congo red staining on the renal amyloid

A: Congo red staining on the AA-type renal amyloid (200 ×); B: Congo red staining on the AA-type renal amyloid (level amplification, 200 ×); C: Congo red staining on the AL-type renal amyloid (200 ×); D: Congo red staining on the AL-type renal amyloid (200 ×)

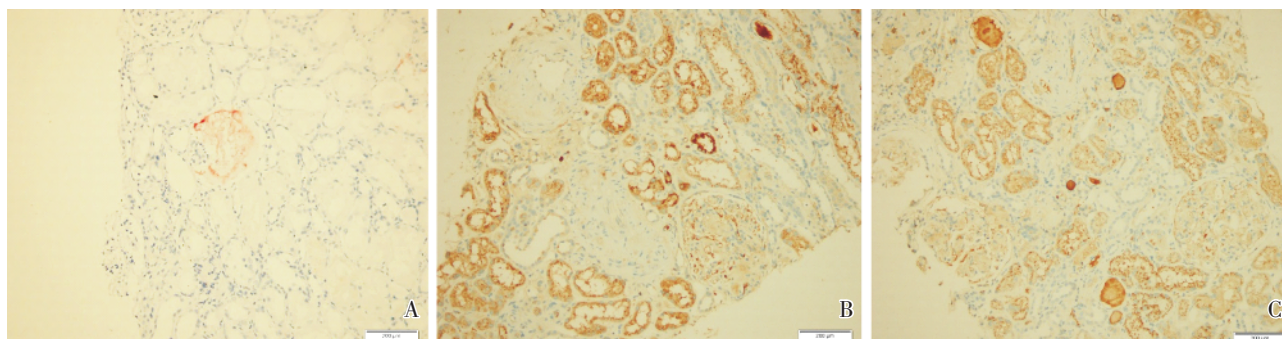


图 3 免疫组化检测肾淀粉样变结果

Fig.3 The results of immunohistochemistry on the renal amyloid

A: SAA expression in the AA-type renal amyloid (200 ×); B: Kappa expression in the AL-type renal amyloid (200 ×); C: Lambda expression in the AL-type renal amyloid (200 ×)

病变部分肾小球呈红色,肾小动脉壁及少部分肾小管也呈红色,其他部位不着色(图 2D)。

2.3 免疫组化检测 SAA 蛋白

对 38 例组织标本进行免疫组化检测, 其中 9

例 kappa 和 lambda 均为阴性, 提示为 AA 型淀粉样变; SAA 抗体阳性区域主要分布于肾小球上, 肾小管和肾间质内较少 (图 3A)。另外 24 例组织 kappa 和 lambda 均为阳性, 提示为 AL 型淀粉样

变,SAA 呈阴性。Kappa 和 lambda 阳性区域分布于肾小球、肾小动脉壁、肾小管和肾间质等多个部位(图 3B,C)。5 例阴性对照组织 3 种抗体均为阴性。

### 3 讨 论

肾淀粉样变的临床表现具有多样性和复杂性的特点,通常以临床表征结合病理检测进行诊断。肾淀粉样变主要有两种类型,原发性淀粉样变(AL 型)和继发性淀粉样变(AA 型)。目前,检测组织中淀粉样物质的方法包括特殊染色(主要有甲基紫染色和刚果红染色两种)和免疫组化方法。

为了全面地分析 3 种方法检测肾淀粉样变的效果,我们收集 38 例组织标本进行了对比研究。我们发现,甲基紫染色能够准确地检测出肾淀粉样变,效果良好,准确率高。但甲基紫染色极易褪色,必须染色后及时观察,不能长时间保存,且甲基紫染色不能替代刚果红染色,或验证其分型结果的可靠性<sup>[10]</sup>。而刚果红染色颜色分明,对比清晰,不仅能够准确地检测出组织中的淀粉样物质,还可以对其类型进行区分,染色不易褪色,可长时间保存,利于以后的复查或会诊等。

免疫组化是目前病理诊断中应用最广泛、最简便而又准确的辅助诊断手段。对于淀粉样变的组织来说,免疫组化不仅能够检测,而且可以对淀粉样物质进行分型:AL 型淀粉样变能够表达 kappa、lambda 两种蛋白,不表达 SAA 蛋白;AA 型淀粉样变能够表达 SAA 蛋白,但不表达 kappa 和 lambda 蛋白。由于 AA 型淀粉样变病变初期,SAA 蛋白表达量极低,一般的免疫组化方法(如 SP 法、LSAB 法等)难以检出,这就限制了免疫组化方法在检测淀粉样变中的应用。本实验中我们所采用的 Envision 法能够将免疫组化的检测信号放大 30~50 倍,使得原本表达较弱的 SAA 信号增强,这样便能够有效检测出 SAA 蛋白的表达(图 3A),使得免疫组化检测淀粉样变成为可能。本次实验共检测了 33 例肾淀粉样变病例,其中 29 例呈 kappa 抗体、lambda 抗体呈阳性,4 例组织 SAA 抗体为阳性,5 例阴性对照 3 种抗体均为阴性,检测结果与刚果红染色结果一致,提示应用 Envision 方法检测淀粉样物质有效,未出现漏检、误检,是一种可

以应用于肾脏疾病诊断的良好方法,且免疫组化结果颜色分明,对比清晰,容易判读,能够长时间保存。

综上所述,我们认为,甲基紫、刚果红和免疫组化方法均可有效地进行淀粉样物质的检测;联合刚果红染色和 SAA 蛋白免疫组化两种方法能够更准确地对肾内淀粉样物质进行分型,为临床诊断提供更多的有用信息。

#### 参考文献:

- [1] Jennette JC, Olson JL, Schwartz MM, et al. Heptinstall's pathology of the kidney [M]. 6th ed. Philadelphia: LippincottRaven, 2006: 853-910.
- [2] Dember LM. Amyloidosis-associated kidney disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 7(12): 3458-3471.
- [3] 陈楠. 肾淀粉样变性诊断治疗的临床体会[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2005, 14(5): 432-433.  
Chen N. The clinical experience of diagnosis and treatment of renal amyloidosis [J]. Chin J Nephrol Dialysis Transpl, 2005, 14(5): 432-433.
- [4] Nishi S, Alchi B, Imai N, et al. New advances in renal amyloidosis [J]. Clin Exp Nephrol, 2008, 12 (2): 93-101.
- [5] Shafique S, Wetmore J, Almehtmi A. Primary amyloidosis of the kidney[J]. The West Virginia Med J, 2010, 106(1): 22-24.
- [6] Holanda DG, Acharya VK, Dogan A, et al. Atypical presentation of atypical amyloid [J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(1): 373-376.
- [7] Anan I, Kiuru-Enari S, Obayashi K, et al. Investigation of AGE, their receptor and NF-kappa B activation and apoptosis in patients with ATTR and gelsolin amyloidosis [J]. Histo Histopathol, 2010, 25(6): 691-699.
- [8] Keeling J, Herrera GA. The mesangium as a target for glomerulopathic light and heavy chains: pathogenic considerations in light and heavy chain-mediated glomerular damage[J]. Contrib Nephrol, 2007, 153(9): 116-134.
- [9] Huang CY, Liang CM, Chu CL, et al. Albumin fibrillization induces apoptosis via integrin/FAK/Akt pathway[J]. BMC Biotechnol, 2009, 9(2): 25-29.
- [10] Picken MM. Immunoglobulin light and heavy chain amyloidosis AL/AH: renal pathology and differential diagnosis[J]. Contrib Nephrol, 2007, 153(9): 135-155.

(编辑 王晓鹰)