

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.038

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.038>

## 免疫胶体金电镜技术在医学研究中的应用

石佼玉 综述 张志刚 审校

(复旦大学上海医学院基础医学院病理学系, 上海 200032)

**[摘要]** 免疫电镜技术是免疫化学技术与电镜技术结合的产物, 是通过标记的抗体与特定的抗原结合来观察和研究超微结构水平组织细胞形态和功能。根据标记方法的不同, 分为免疫铁蛋白技术、免疫酶标技术和免疫胶体金技术, 其中应用较多的是胶体金技术。在电镜水平, 金颗粒具有很高的电子密度, 清晰可辨, 因此利用胶体金标记的二抗, 与相应一抗结合, 从而将目标抗原标记。免疫电镜胶体金标记法近年来被成功地应用于医学生物学的各个方面, 并取得了长足的进展, 为解决一些医学上的微观结构问题提供了很好的帮助。

**[关键词]** 免疫电镜; 胶体金; 肾病; 肿瘤

## Application of immune colloidal gold electron microscope technology in medical research

SHI Jiaoyu, ZHANG Zhigang

(Department of Pathology, School of Basic Medicine, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract** Immunoelectron microscope technology is a method with combination of immunochemical technology and electron microscope, which can be used to observe and study the morphology and function of the cells and organs at the ultrastructural level by binding the labeled antibodies to specific antigens. It is divided into three types including immuno-iron protein technology, immuno-enzyme labeling technology and immune colloidal gold technique depending on different labeling methods. Among them, immune colloidal gold technique is more common to be used. At the electron microscope level, the gold particle has a high electron density and is clear distinguishable. Therefore, the secondary antibody combined with gold particles is used to react with the primary antibody to label the targeted antigen. In last decade, immune colloidal gold technique has made great progress for successfully applying to various aspects of cell biology, which provides much help for solving some medical problems under ultrastructural level.

**Keywords** immunoelectron microscope; colloidal gold; kidney disease; tumors

收稿日期 (Date of reception): 2019-03-04

通信作者 (Corresponding author): 张志刚, Email: [zzg@shmu.edu.cn](mailto:zzg@shmu.edu.cn)

免疫电镜技术是将免疫化学技术与电镜技术相结合的产物,是在超微结构水平研究和观察抗原、抗体结合定位的一种方法学。根据标记方法的不同,分为免疫铁蛋白技术、免疫酶标技术和免疫胶体金技术,其中应用较多的是胶体金技术。免疫电镜胶体金标记法近年来被成功地应用于生物学的各个方面,并取得了长足的进展。在肾病、肿瘤、神经病变、病毒检测以及肺部炎症等多个领域中,为解决一些医学上的微观结构问题提供了很好的帮助。胶体金标记技术也日渐完善,成为医学研究和疾病诊断的重要辅助技术。

## 1 免疫胶体金技术原理

免疫胶体金技术是以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种新型的免疫标记技术<sup>[1-2]</sup>。胶体金是由氯化金酸( $\text{HAuCl}_4$ )在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下,聚合成为特定大小的金颗粒,并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态,称为胶体金。胶体金除了与蛋白质结合以外,还可以与许多其他生物大分子结合,如SPA, PHA, ConA等。根据胶体金的一些物理性状,如高电子密度、颗粒大小、形状及颜色反应,可以被电子显微镜清晰地观察到,加上结合物的免疫和生物学特性,使胶体金广泛地应用于免疫学、组织学、病理学和细胞生物学等领域的细胞超微结构水平的研究<sup>[3-5]</sup>。

目前电镜水平的免疫金染色,光镜水平的免疫金银染色,以及肉眼水平的斑点免疫金染色技术日益成为科学研究和临床诊断的有力工具。胶体金的物理性质显示胶体金颗粒大小多为1~100 nm,微小金颗粒可稳定、均匀地呈单分散状态悬浮在液体中,成为胶体金溶液。当用金标记的抗体与抗原反应时,在光镜水平胶金液呈现鲜艳的樱红色,通常不需另外进行染色。在电镜水平,金颗粒具有很高的电子密度,清晰可辨。因此,免疫电镜胶体金标记法近年来被成功地应用于生物学的各个方面,并取得了长足的进展,解决了一些过去在超微结构水平未能解决的问题。

## 2 免疫胶体金技术在肾病中的应用

肾是人体重要器官,发挥重要的生理功能。而肾病又是常见病,其中还有一些疑难病。因此,对肾病的研究具有重要的临床意义。肾病多数是免疫复合物介导的肾小球肾炎,通过电镜

观察肾小球的超微结构改变,以及免疫复合物(电镜下的电子致密物)在肾小球超微结构上的沉积分布部位是肾病诊断和研究的重要方法。胶体金标记技术也正是在观察肾超微结构的基础上进一步发展起来的。通过设计特异性抗体结合胶体金,可以根据免疫病理学的原理检测肾小球内的结构蛋白成分或致密物的性质和分布,为肾病的诊断及发病机制的研究提供更精确的信息和诊断依据。因而在肾病理中得到广泛的应用。

IgA肾病是国内最常见的肾小球病变之一。主要是系膜区IgA免疫复合物的沉积引起炎症反应。偶尔也可伴有上皮下极少量的电子致密物沉积。但有些患者IgA肾病又可以合并膜性肾炎,这类患者既有系膜区的IgA免疫复合物沉积,也有多少不等的上皮下IgG免疫复合物沉积,此时单靠透射电镜检查就不能鉴别上皮下的致密物是IgG免疫复合物,还是IgA免疫复合物。王素霞等<sup>[6]</sup>对11例膜性肾病合并IgA肾病的患者进行回顾性分析时,利用胶体金技术分别对IgA和IgG进行标记,显示肾小球上皮下的电子致密物IgG标记阳性,而系膜区的致密物则是IgA阳性。这个结果证明两个部位电子致密物的成分并不一样,这是IgA肾病合并膜性肾病。

肾淀粉样变性是淀粉样变性的系统性表现,预后不良<sup>[7]</sup>。轻链型和淀粉相关蛋白A(AA型)是两种最常见的淀粉样变型类型。两者在光镜下的表现相似,电镜下也都有肾小球内大量微纤维沉积。而确定肾淀粉样变的分型是进一步治疗的基础。肾病学通过应用抗 $\kappa$ 或 $\lambda$ 轻链抗体-胶体金免疫标记可确认微纤维的主要成分是否单克隆轻链。王素霞等<sup>[8]</sup>回顾了1994年至2002年间其所在医院肾病研究所的52例肾淀粉样变病例,应用免疫胶体金技术发现了45例肾组织沉积物中有 $\lambda$ 单克隆轻链阳性,其中有15例病理改变轻微的早期轻链型病例也可见其被单一轻链标记。证实中国的肾淀粉样变主要是轻链型。本课题组就针对1例轻链型肾淀粉样变(图1)进行了胶体金的标记。课题组使用兔抗 $\lambda$ 抗体进行孵育,并采用羊抗兔胶体金二抗进行标记,发现在肾小球内部淀粉样物质沉积处可见大量胶体金颗粒分布,而没有淀粉样物质沉积处即空白处则未见胶体金颗粒分布,从而证实了这一例淀粉样变病例的本质是 $\lambda$ 型淀粉样变。Veeramachaneni等<sup>[9]</sup>则报道了免疫金标记证实的 $\kappa$ 轻链型肾淀粉样变病例。王妍等<sup>[10]</sup>利用免疫胶体金技术还发现证实了1例少见的白细胞趋化因子2(Lect2)相关肾淀粉样变,成为中国国内这种罕见病的首例报道。

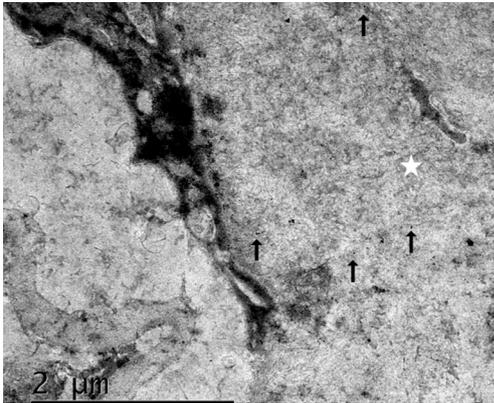


图1 肾淀粉样变, 肾小球系膜区大量淀粉样均质基质沉积, 高倍镜下见基质内有大量排列紊乱的微纤维样结构(☆), 有大量λ抗体标记的胶体金颗粒散在分布(↑), 表明淀粉样微纤维有大量λ轻链成分组成(EM, ×20 000)

**Figure 1 Renal amyloidosis:** There are a large amount of amyloid matrix deposited in mesangial area. Under high power, the amyloid deposition is composed of numerous microfibril distributed randomly in matrix (☆), and a large number of λ antibody-labeled colloidal gold particles scattered distribution (↑), which indicating that amyloid microfibrils have a large number of λ light chain components (EM, ×20 000)

胶体金标记还可用于研究肾病机制。足细胞病变是许多肾小球肾炎的病变基础。有研究<sup>[11-12]</sup>发现在多种肾小球肾炎中足细胞的损伤与细胞内去泛素化酶UCH-L1异常表达升高有关。通过胶体金标记证明UCH-L1在急性增生性肾炎、膜性肾炎、IgA肾病及狼疮性肾炎等病变中的足细胞标记阳性, 并与肾小球病变程度密切相关<sup>[13]</sup>(图2)。Cao等<sup>[14]</sup>研究了一组患有各种肾小球肾炎的中国丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染患者中的肾内HCV抗原检测, 由于HCV感染患者的肾内检测病毒抗原是困难的, 因此研究者利用胶体金技术, 使用针对HCV-NS3蛋白的鼠单克隆抗体, 发现HCV-NS3的标记主要定位于膜增生性肾炎的肾小球电子致密物内, 证明HCV本身可能直接参与HCV相关的肾炎的发病机制。Kinugasa等<sup>[15]</sup>则利用免疫胶体金扫描电子显微镜的方法, 在嘌呤霉素氨基核苷(puromycin aminonucleoside, PAN)肾病大鼠模型中的近端小管的腔和内吞囊泡中以及足细胞表面上观察到免疫金标记的白蛋白, 显示肾病大鼠中近端小管的白蛋白内吞作用和足细胞中白蛋白的胞吐作用增强。Li等<sup>[16]</sup>在研究马兜铃酸肾病中马兜铃酸(aristolochic acid, AAs)在靶器官肾中的原位定位时, 通过抗AA-I单克隆抗体的胶体金免疫电镜技术

发现: 在肾小管中, AA-I的金颗粒倾向在线粒体和过氧化物酶体中积累, 提示马兜铃酸肾病可能通过细胞线粒体损伤机制进行调控。

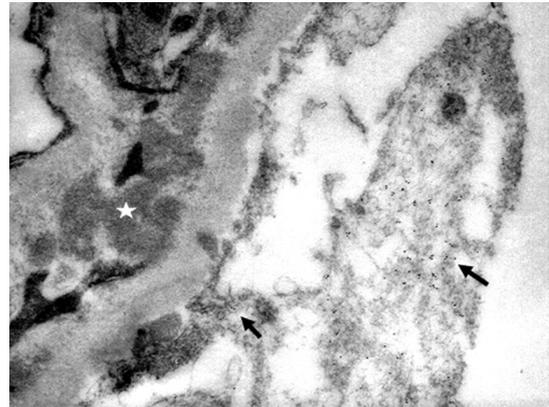


图2 在狼疮性肾炎, 肾小球系膜区大量电子致密物沉积(☆), 外侧足细胞胞浆肿胀疏松, 足突融合, 在足细胞胞浆及融合的足突中有大量UCH-L1标记的金颗粒分布(↑), 表明足细胞中UCH-L1表达升高<sup>[13]</sup>(EM, ×15 000)

**Figure 2 Lupus nephritis:** There is numerous electron dense deposition in the glomerular mesangial area (☆). The lateral podocytes swelled with foot process fusion, and there are a large number of UCH-L1 labeling gold particles distributed in podocyte cytoplasm and fused foot processes (↑), which indicating increased expression of UCH-L1 in podocytes [13] (EM, ×15 000)

### 3 免疫胶体金技术在肿瘤研究及诊断中的应用

肿瘤是严重威胁人类健康的疾病。免疫胶体金技术在肿瘤研究中也得到广泛的应用, 对一些肿瘤细胞的发病机制研究及诊断提供了有用的信息。

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)是起源于神经内分泌细胞的肿瘤。可以产生多种激素。而分化差的神经内分泌细胞可能难以识别, 需要敏感的方法来标记已经失去其细胞结构特征并且具有较低神经内分泌标志物浓度的细胞。在胃肿瘤中, 肠嗜铬细胞样细胞可能去分化并失去其特征性颗粒和分泌囊泡, 使得检测这些细胞变得越来越困难<sup>[17]</sup>。Fossmark等<sup>[18]</sup>使用嗜铬粒蛋白A(CgA)免疫金标记进行了胃神经内分泌细胞的敏感和特异性检测。发现低分化细胞的电子致密颗粒比分化良好的细胞中的颗粒标记强度低。具有非典型形状的颗粒, 证实了CgA免疫金标

记的使用可以确保具有神经内分泌颗粒的细胞的特定分类, 并且是低分化肿瘤的免疫组织化学检查的补充。

肾母细胞瘤是小儿最常见的腹部恶性肿瘤。细胞外基质成分的表达模式在肾母细胞瘤中备受关注。Zuber等<sup>[19]</sup>利用免疫胶体金技术证实了肿瘤细胞表面和细胞外空间中的无定形电子致密物质实际上是由聚唾液酸组成的。作者使用金标记的单克隆抗体735检测无定形物质, 发现由厚表面被覆盖的质膜区域在整个无定形物质中表现出致密的免疫金标记。证明Wilms肿瘤中的细胞表面物质, 实际上由聚唾液酸组成。这一结果对肾母细胞瘤的治疗有指导作用。

乳腺癌浸润转移与乳腺导管的基底膜中层粘连蛋白和IV型胶原蛋白连续性中断有关<sup>[20]</sup>。Fu等<sup>[21]</sup>使用胶体金标记发现层粘连蛋白和IV型胶原的免疫染色显示金颗粒沿着上皮细胞和肌上皮细胞下方的整个基底层弥散分布, 并且都不限于任何特定区域。而两种成分在上皮细胞和肌上皮细胞之间均不存在。这一结果说明: 这些细胞的层粘连蛋白结合可能仅发生在它们与基底层接触的基底方面, 并且不参与上皮细胞和肌上皮细胞之间的细胞黏附。该研究为正常和肿瘤性乳腺组织中细胞外基质成分的作用研究提供了基础。此外, Roslind等<sup>[22]</sup>使用抗人软骨糖蛋白39(YKL-40)抗体进行胶体金标记, 发现在正常的腺体和癌组织中, 均可在上皮细胞的胞质中弥漫性地观察到YKL-40标记。然而, 在正常腺体组织中, 与中间细丝和桥粒相关的标记增加, 细胞腔侧面上的细丝聚集体增强。在癌组织中则与丝状结构和桥粒没有任何特殊关系。这些结果表明YKL-40在上皮细胞中的功能可能与细胞运动性、细胞-细胞黏附以及肿瘤细胞的侵袭和迁移潜力相关的特征有关。

在一项探讨胰腺癌与胰高血糖素及胃泌素/胆囊收缩素的相关性研究中, Seretis等<sup>[23]</sup>通过免疫胶体金技术标记胰高血糖素和胃泌素/胆囊收缩素, 分别在正常胰腺组织、慢性胰腺炎组织以及不同分化程度的胰腺癌组织中进行标记。发现在相邻的正常胰腺组织中, 胰高血糖素阳性细胞占总病例的83.33%, 阳性强; 胃泌素/胆囊收缩素的阳性细胞占总病例的33.3%, 免疫染色弱至中等。在慢性胰腺炎组织中, 胰高血糖素阳性细胞占66.66%, 免疫反应中等; 其中1例也是胃泌素/胆囊收缩素阳性, 免疫反应较弱。胰腺癌中, 在高分化胰腺癌组织中, 胰高血糖素表达为62.5%, 并且在50%的病例中检测到胃泌素/胆囊收缩素表

达。在低分化的腺癌中, 胰高血糖素检测到50%, 而胃泌素检测率为75%。这说明胰高血糖素分泌降低, 胃泌素/胆囊收缩素表达升高与胰腺癌细胞恶性程度有关。

#### 4 免疫胶体金技术在神经系统疾病等其他医学研究中的应用

难治性癫痫患者脑组织中存在着多耐药基因蛋白(multiple drug resistant gene protein-1, MDR1)高表达现象<sup>[24]</sup>, 但就MDR1蛋白在脑内哪种细胞上表达的看法不一致, 丁成云等<sup>[25]</sup>使用免疫胶体金染色技术证实MDR1蛋白的表达与GFAP表达的细胞类型相同, 主要局限于胶质细胞特别是一些反应性星形胶质细胞内, 这对有关抗癫痫药物耐药机制的研究有重要意义。

彭玲等<sup>[26]</sup>则将EGFP报告基因导入大鼠的骨髓间充质干细胞, 注入受损伤的周围神经组织内, 然后使用抗EGFP抗体对其进行胶体金标记, 发现金颗粒均匀分布在干细胞的细胞核内及细胞质内, 证实了经EGFP标记骨髓间充质干细胞在损伤的周围神经组织内可以存活。在另一项实验中, 刘登群等<sup>[27]</sup>对GFP小鼠的骨髓干细胞进行尾静脉移植后使用抗GFP抗体进行胶体金标记, 发现金颗粒散布于肠上皮细胞内, 而阴性对照组则未见, 证实了移植后的骨髓干细胞可以正常分化为具有正常功能的肠上皮细胞。

散发性包涵体肌炎(scattered inclusion body myositis, s-IBM)是老年人最常见的进行性肌肉疾病。s-IBM逐渐损害手和大腿的肌肉, 导致严重的功能障碍<sup>[28]</sup>, 对老年人的生活影响甚大。然而对其发病机制知之甚少, 且没有有效的治疗方法, 因此需要动物模型进行这一疾病的重建。Page等<sup>[29]</sup>发现: 在骨骼肌中表达的突变凝溶胶蛋白可导致的类似形态学变化, 使人联想到散发性包涵体肌炎。因此Bannykh等<sup>[30]</sup>在肌酸激酶启动子控制下的小鼠中表达了致病性D187N凝溶胶蛋白构建体, 使用特定抗体进行免疫金标记, 发现在肌纤维内, 检测到膜结构区室的密集标记, 具有相关的可识别核糖体, 并且形状与电镜中观察到的扩张粗面内质网相同, 证明凝溶胶蛋白的细胞内沉积物主要存在于18个月小鼠的心肌细胞的粗面内质网中。实验结果有助于进一步对s-IBM的发病机制进行探索。

胆道感染是胆红素钙结石形成的主要原因。在感染时胆道中的细菌释放出 $\beta$ -葡萄糖醛酸酶( $\beta$ -G), 使结合胆红素水解出葡萄糖醛酸, 其游离

胆红素与钙盐结合发生沉淀。杨波等<sup>[31]</sup>使用免疫胶体金技术对胆红素结石患者以及正常对照人群肝细胞溶酶体内源性 $\beta$ -G进行定量比较研究,发现胆红素结石患者的肝细胞溶酶体 $\beta$ -G测定结果明显高于正常对照人群,显示内源性 $\beta$ -G与胆红素结石的形成密切相关。

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)活动发作的中心事件是中性粒细胞浸润到结肠固有层,而细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)介导白细胞与内皮细胞的牢固黏附,在UC中,ICAM-1也被认为参与白细胞向上皮层的进一步迁移<sup>[32]</sup>。为了确定ICAM-1在UC患者肠黏膜细胞上的超微结构定位,Vainer等<sup>[33]</sup>通过免疫金标记对3名UC患者和3名正常对照者进行标记,发现在对照组的结肠中,ICAM-1在内皮细胞的腔细胞膜上表达,在浸润的白细胞,基质细胞或固有层的细胞外组分上未观察到标记。而在发炎的UC结肠中,ICAM-1在内皮细胞和捕获的粒细胞之间的接触区域中标记明显升高。并且在基底内皮细胞膜,巨噬细胞和浆细胞上观察到标记。上皮细胞则没有表达。利用胶体金技术首次证明了UC结肠中ICAM-1表达的特定模式,有益于进一步研究UC的发病机制。

胶体金免疫电镜也是病毒研究的重要实验技术。Kaito等<sup>[34]</sup>为更具体地阐明HCV,使用免疫金电镜技术进行鉴定。对具有高HCV RNA滴度的患者的血浆样品,使用针对HCV包膜蛋白E的特异性抗体进行标记,将其与其他结构区分。并结合旋光方法证明HCV病毒颗粒是55~65 nm的球形颗粒,而HCV的核心为具有二十面体形状的球形颗粒。此外,该技术也用于一些疾病的病毒检测。西尼罗河病毒(west Nile virus, WNV)是一种重要的黄病毒,据文献<sup>[35]</sup>报道与中枢神经系统和远端肾小管上皮的持续感染密切相关。但是Murray等<sup>[36]</sup>在使用PCR对患者尿液进行病毒RNA检测时发现效率较低,敏感性低下,因此Murray等<sup>[36]</sup>首次使用胶体金电镜技术采用WNV特异性抗体对尿沉渣中的WNV进行鉴定,成功检测了尿液中的WNV病毒颗粒,并提供了一种比传统PCR更敏感的方法,为人类WNV感染后的病毒持续性提供了进一步的证据。戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)是急性或暴发性戊型肝炎的致病因子。Nagashima等<sup>[37]</sup>在一项探究HEV病毒颗粒释放途径是否是通过多泡体的研究中,为对HEV颗粒进行定位分析,采用针对HEV的ORF2蛋白H6225以及免疫金偶联的抗IgG抗体对多泡体管腔内存在的病

毒样颗粒进行标记,发现阳性颗粒的存在,从而证实HEV颗粒存在于MVB中,并通过其释放。

## 5 结语

胶体金标记抗体技术在电镜水平应用有许多优点:灵敏度高,染色简便,显色结果可长期保存;并且可进行双重或多重标记;金颗粒具有很高的电子密度,在电镜下金颗粒清晰可辨,易于与其他免疫产物相区别。同时,胶体金免疫电镜技术也具有一定的局限性,其对实验条件要求严格,存在一定的条件误差。此外,该技术对操作者有一定的要求,在技术上也有一定的难度,需要多次摸索。由于金颗粒具有强烈的继发电子的能力,不仅可以用于透射电镜的超薄切片观察,也可以用于扫描电镜对细胞表面的抗原、受体进行标记定位观察;金标液无毒性,对人体无损伤;因此胶体金技术得到广泛应用。近十余年来胶体金标记已经发展为一项重要的免疫标记技术,并越来越受到相关研究领域的重视和应用。

## 参考文献

1. Newman GR, Jasani B, Williams ED. A simple post-embedding system for the rapid demonstration of tissue antigens under the electron microscope[J]. *Histochem J*, 1983, 15(6): 543-555.
2. Newman GR, Hobot JA. Modern acrylics for post-embedding immunostaining techniques[J]. *J Histochem Cytochem*, 1987, 35(9): 971-981.
3. Goldberg MW, Fiserova J. Immunogold Labelling for Scanning Electron Microscopy[J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 657: 297.
4. Sachse M, de Castro IF, Fournier G, et al. Metal-tagging transmission electron microscopy and immunogold labeling on Tokuyasu cryosections to image influenza A virus ribonucleoprotein transport and packaging[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1836: 281-301.
5. Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP. Immunogold cytochemistry in neuroscience[J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(7): 798-804.
6. 王素霞, 邹万忠, 杨莉. 膜性肾病合并IgA肾病的临床病理特点[J]. *中华病理学杂志*, 2007, 36(3): 171-174.  
WANG Suxia, ZOU Wanzhong, YANG Li. Clinicopathologic features of membranous nephropathy coexisting with IgA nephropathy[J]. *Chin J Pathol*, 2007, 36(3): 171-174.
7. Hawkins PN. Diagnosis and treatment of amyloidosis[J]. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56(11): 631.
8. 王素霞, 邹万忠, 王梅. 肾轻链沉积病和轻链型淀粉样变的电镜及免疫电镜研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2003, 35(6):

- 576-580.
- WANG Suxia, ZOU Wanzhong, WANG Mei. Ultrastructural and immunoelectron microscopic study on light chain deposition diseases and primary amyloidosis of the kidney[J]. Journal of Peking University. Health Sciences, 2003, 35(6): 576-580
9. Veeramachaneni R, Gu X, Herrera GA. Atypical amyloidosis: Diagnostic challenges and the role of immunoelectron microscopy in diagnosis[J]. Ultrastruct Pathol, 2004, 28(2): 75-82.
  10. 王妍, 王素霞, 章友康. 白细胞趋化因子2型肾淀粉样变性病1例[J]. 北京大学学报(医学版), 2015, 47(2):349-351.  
WANG Yan, WANG Suxia, ZHANG Youkang. Leukocyte chemotactic factor 2 associated renal amyloidosis: one case report[J]. Journal of Peking University. Health Sciences, 2015, 47(2): 349-351.
  11. Liu Y, Wu J, Wu H, et al. UCH-L1 expression of podocytes in diseased glomeruli and in vitro[J]. J Pathol, 2010, 217(5): 642-653.
  12. Shirato I, Asanuma K, Takeda Y, et al. Protein gene product 9.5 is selectively localized in parietal epithelial cells of Bowman's capsule in the rat kidney[J]. J Am Soc Nephrol, 2000, 11(12): 2381-2386.
  13. Meyer-Schwesinger C, Meyer TN, Münster S, et al. A new role for the neuronal ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) in podocyte process formation and podocyte injury in human glomerulopathies[J]. J Pathol, 2010, 217(3): 452-464.
  14. Cao Y, Zhang Y, Wang S, et al. Detection of the hepatitis C virus antigen in kidney tissue from infected patients with various glomerulonephritis[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(9): 2745-2751.
  15. Kinugasa S, Tojo A, Sakai T, et al. Silver-enhanced immunogold scanning electron microscopy using vibratome sections of rat kidneys: detection of albumin filtration and reabsorption[J]. Med Mol Morphol, 2010, 43(4): 218-225.
  16. Li XW, Yokota S, Wang D, et al. Localization of aristolochic acid in mouse kidney tissues by immunohistochemistry using an anti-AA-I and AA-II monoclonal antibody[J]. Am J Chin Med, 2014, 42(6): 1453-1469.
  17. Capella C, Polak JM, Timson CM, et al. Gastric carcinoids of argyrophil ECL cells[J]. Ultrastruct Pathol, 1980, 1(3): 411-418.
  18. Fossmark R, Martinsen TC, Qvigstad G, et al. Ultrastructure and chromogranin A immunogold labelling of ECL cell carcinoids[J]. APMIS, 2005, 113(7/8): 506-512.
  19. Zuber C, Fan J, Guhl B, et al. Applications of Immunogold Labeling in Ultrastructural Pathology[J]. Ultrastruct Pathol, 2005, 29(3/4): 319-330.
  20. Hewitt RE, Powe DG, Morrell K, et al. Laminin and collagen IV subunit distribution in normal and neoplastic tissues of colorectum and breast[J]. Br J Cancer, 1997, 75(2): 221-229.
  21. Fu HL, Moss J, Shore I, et al. Ultrastructural localization of laminin and type IV collagen in normal human breast[J]. Ultrastruct Pathol, 2002, 26(2): 77-80.
  22. Roslind A, Balslev E, Kruse H, et al. Subcellular localization of YKL-40 in normal and malignant epithelial cells of the breast[J]. Ultrastruct Pathol, 2008, 32(3): 101-106.
  23. Seretis EC, Gavriil AN, Golematis VC, et al. Immunoelectron study of pancreatic carcinomas using antibodies to gastrointestinal hormones[J]. Ultrastruct Pathol, 2007, 31(4): 303-314.
  24. Sisodiya SM, Lin WR, Harding BN, et al. Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy[J]. Brain, 2002, 125(Pt 1): 22-31.
  25. 丁成云, 徐群渊, 栾国明. 难治性癫痫患者脑组织胶原纤维酸性蛋白和多药耐药基因蛋白的免疫电镜观察[J]. 解剖学报, 2004, 35(6): 595-597.  
DING Chengyun, XU Qunyuan, LUAN Guoming. Immunoelectron microscopic observation of glial fibrillary acidic protein and multidrug resistance gene protein in brain of patients with refractory epilepsy[J]. Acta Anatomica Sinica, 2004, 35(6): 595-597.
  26. 彭玲, 郑颖, 张培训. 用免疫电镜的方法观察间充质干细胞及再生纤维的超微结构和胶体金标记[J]. 电子显微学报, 2004, 23(4): 503-503.  
PENG Ling, ZHENG Shuying, ZHANG Peixun. Ultrastructural and colloidal gold labeling of mesenchymal stem cells and regenerated fibers by immunoelectron microscopy[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2004, 23(4): 503-503.
  27. 刘登群, 王锋超, 陶忠芬. 骨髓移植后受体小鼠肠上皮内供体细胞的免疫电镜观察[J]. 山西医科大学学报, 2009, 40(2): 100-102.  
LIU Dengqun, WANG Fengchao, TAO Zhongfen. Immunoelectromicroscopy observation of donor-derived cells in intestinal epithelium of recipient mice after bone marrow transplantation[J]. Journal of Shanxi Medical University, 2009, 40(2): 100-102.
  28. Engel WK, Askanas V. Inclusion-body myositis Clinical, diagnostic, and pathologic aspects[J]. Neurology, 2006, 66(2 Suppl 1): S20.
  29. Page LJ, Ji YS, Bazhenova L, et al. Secretion of amyloidogenic gelsolin progressively compromises protein homeostasis leading to the intracellular aggregation of proteins[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(27): 11125-11130.
  30. Bannykh SI, Balch WE, Kelly JW, et al. Formation of gelsolin amyloid fibrils in the rough endoplasmic reticulum of skeletal muscle in the gelsolin mouse model of inclusion body myositis: Comparative analysis to human sporadic inclusion body myositis[J]. Ultrastruct Pathol, 2013, 37(5): 304-11.
  31. 杨波, 朱善德, 赵永光. 肝细胞内源性β-葡萄糖醛酸酶与胆红素结石关系的免疫电镜研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2000, 6(2): 123-125.  
YANG Bo, ZHU Shande, ZHAO Yongguang. Immunoelectron microscopic study on the relationship between endogenous β-glucuronidase and bilirubin stones in hepatocytes[J]. Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery, 2000, 6(2):123-125.

32. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm[J]. Cell, 1994, 76(2):301-314.
33. Vainer B, Sørensen S, Nielsen OH, et al. Subcellular localization of intercellular adhesion molecule-1 in colonic mucosa in ulcerative colitis[J]. Ultrastruct Pathol, 2002, 26(2): 113-121.
34. Kaito M, Ishida S, Tanaka H, et al. Morphology of hepatitis C and hepatitis B virus particles as detected by immunogold electron microscopy[J]. Med Mol Morphol, 2006, 39(2): 63-71.
35. Appler KK, Brown AN, Stewart BS, et al. Persistence of west Nile virus in the central nervous system and periphery of mice[J]. PLoS One, 2010, 5(5): e10649.
36. Murray KO, Kolodziej S, Ronca SE, et al. Visualization of west Nile virus in urine sediment using electron microscopy and immunogold up to nine years postinfection[J]. Am J Trop Med Hyg, 2017, 97(6): 1913.
37. Nagashima S, Jirintai S, Takahashi M, et al. Hepatitis E virus egress depends on the exosomal pathway, with secretory exosomes derived from multivesicular bodies[J]. J Gen Virol, 2014, 95(Pt\_10): 2166-2175.

**本文引用:** 石佼玉, 张志刚. 免疫胶体金电镜技术在医学研究中的应用[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(9): 2079-2085. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.038

**Cite this article as:** SHI Jiaoyu, ZHANG Zhigang. Application of immune colloidal gold electron microscope technology in medical research[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2019, 39(9): 2079-2085. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.038