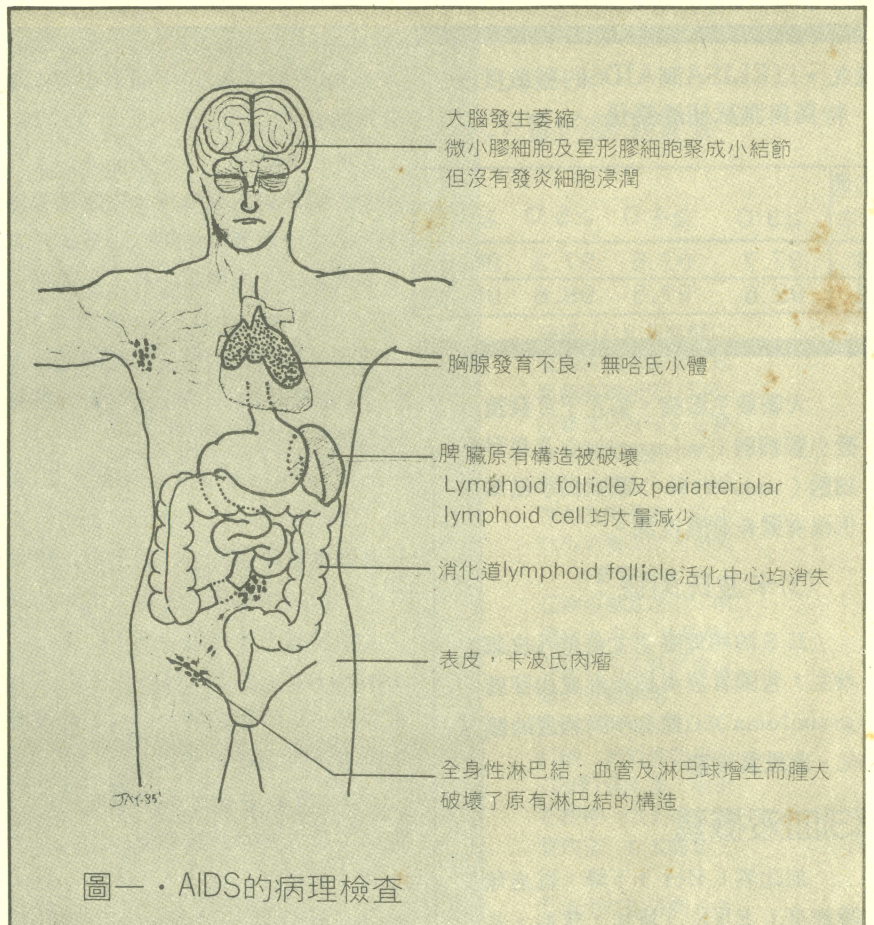


# 之五 AIDS 的

## 診斷與檢驗

執筆：蔡呈芳

插圖：羅仁傑



AIDS 的檢查可以分成 AIDS 之  
確認，及機會性感染之診斷兩部分來  
說明。而檢查方式可以是臨床診斷、  
免疫檢查、血液學檢查、病理檢查、  
或是藉助 X-ray 等等方式。

### (A) AIDS 的確認

#### (1) 臨床症狀

事實上 CDC 對 AIDS 的定義並  
不牽涉臨床症狀，而以臨床症狀來診  
斷 AIDS，的確也不可靠。不過我們  
可概略的以 PGL，KS，PCP 來作  
為參考，然而沒有任一項是一定會出  
現的。但一般而言，至少要能找到一  
種機會性感染媒，才能肯定 AIDS 之

診斷。

#### (2) 病理檢查

病理檢查對 AIDS 的診斷並無多  
大幫助，頂多只是用於確認 PGL 及  
KS。

(但病理檢查，或生檢對機會  
性感染之確認，極為重要。)

#### (1) 淋巴組織：

在淋巴結主要的變化是血管及  
B-lymphocyte 增生，並有 Ts cell 浸  
潤，破壞了原有結構，在胸腺脾臟，  
及消化道淋巴組織則均有發育不良情  
形<sup>7</sup>。

#### (2) 腦<sup>16</sup>：



表九・以ELISA測AIDS的靈敏度及特異與測試值的關係

ELISA的最 小正比率	≥3.0	≥4.0	≥5.0	≥6.0
靈敏度	97.7	97.5	97.3	96.6
特異性	92.6	97.5	98.6	99.3

大腦發生萎縮，切片下可發現由微小膠細胞 (microglia) 及星形膠細胞 (astrocyte) 聚成的小結節，但沒有發炎細胞浸潤。

### (3) 卡波氏肉瘤：

K S 的病理變化主要是外皮細胞增生，包圍著發炎細胞形成肉芽腫 (granuloma)，並有不同程度的纖維化、血鐵質沈積。

### (3) 血液檢查

血比容 (Hct) 下降，紅血球沉降速度 (ESR) 增加，貧血，並可以有血小板減少，白血球減少 (40%)，中性球減少，幼形中形球增加，淋巴球減少，乃至全部血球均減少。

### (4) 免疫學檢查

免疫學的檢查，無疑的是 AIDS 確認中，最重要的一部分，由於大多數的免疫變化在前面已介紹過，因此在這一段中，將偏重在目前漸為血庫採用的 HTLV-III 抗體的檢查方面。

#### (a) $T_4/T_8$

在 AIDS，或 pre-AIDS 的患者，其血中  $T_4/T_8$  絕大多數會發生改變。在 AIDS 患者  $T_4$ ， $T_8$ ， $T_4/T_8$  分別為：419 (122 ~ 831) /  $\mu$ l，1104 (480 ~ 1981) /  $\mu$ l，

< 1.08 (或 0.8)，而在正常人則分別為 0.42 (0.12 ~ 2.35)，795 (558 ~ 945)，2.3 (0.9 ~ 3.5)<sup>17</sup>，雖然對上述數值各報導差異頗大，然而一般來說， $T_4/T_8$  會由正常人的大於 1，而變成小於 1，稱為  $T_4/T_8$  inversion。 $T_4$  主要是  $T_h$  淋巴球，可以幫助免疫反應的進行，而  $T_8$  主要是指  $T_s$  淋巴球，會抑制免疫反應。

$T_4/T_8$  inversion 可能是  $T_4$  減少， $T_8$  增加，或二者同時發生。在一些高危險群者身上，我們可以發現  $T_8$  的增加，而若干疾病 (或肺結核) 乃至營養不良也可造成  $T_4/T_8$  inversion，至於 AIDS 患者之  $T_4$  減少是可以確定之事，但  $T_8$  是否增加則有不同之報導。

$T_4/T_8$  在研究 AIDS 的早期，提供了最主要的診斷方法。 $T_4$ ， $T_8$  的值，主要由 FACS (fluorescence-activated cell sorter) 來計算，甚為不便。

#### (b) HTLV-III 抗體

自從確認了 HTLV-III 在 AIDS 中扮演了主要的角色後，HTLV-III Ab 的檢驗就成了一項重要的工作。目前歐美血庫已開始將 HTLV-III Ab 列入常規檢驗項目。其最主要的意義，不在於確認 AIDS，而在防止 AIDS 藉血液製品而污染，因為 HTLV-III Ab 普遍存於高危險群者，可能平均高達 50%，而在 pre-AIDS 則更高達 90% 以上。

HTLV-III 抗體的檢驗，可以分成篩選及確認兩階段，目前歐美血庫只能作到篩選的階段，而我國血庫則基於成本問題，尚未採行。

目前已有 Abbott ELISA 及 Elec-

tronucleonics Inc (ENI) ELISA 二種試劑被美國 FDA (Food and Drug Administration) 核准上市，用以篩選 HTLV-III 抗體。

任何檢驗都不能免除偽陽性、偽陰性。上述試劑也不例外。然而 AIDS 一病，非同小可，且有證據顯示，只要輸一次血，便可能感染 AIDS，而致死亡，因此在 HTLV-III 抗體的檢驗中，偽陰、偽陽的問題受到較多的重視。要如何防止血液製品污染呢？自然我們可以調低 ELISA 的閾值，但我們由表九<sup>19</sup> 中可以發現特異性下降的程度比靈敏度上升程度還大。我們所擔心的不是供血的來源減少，而是偽陽性對捐血者所可能帶來精神困擾，其解決之道，可能就要求助於 HTLV-III 抗體的確認試驗了。

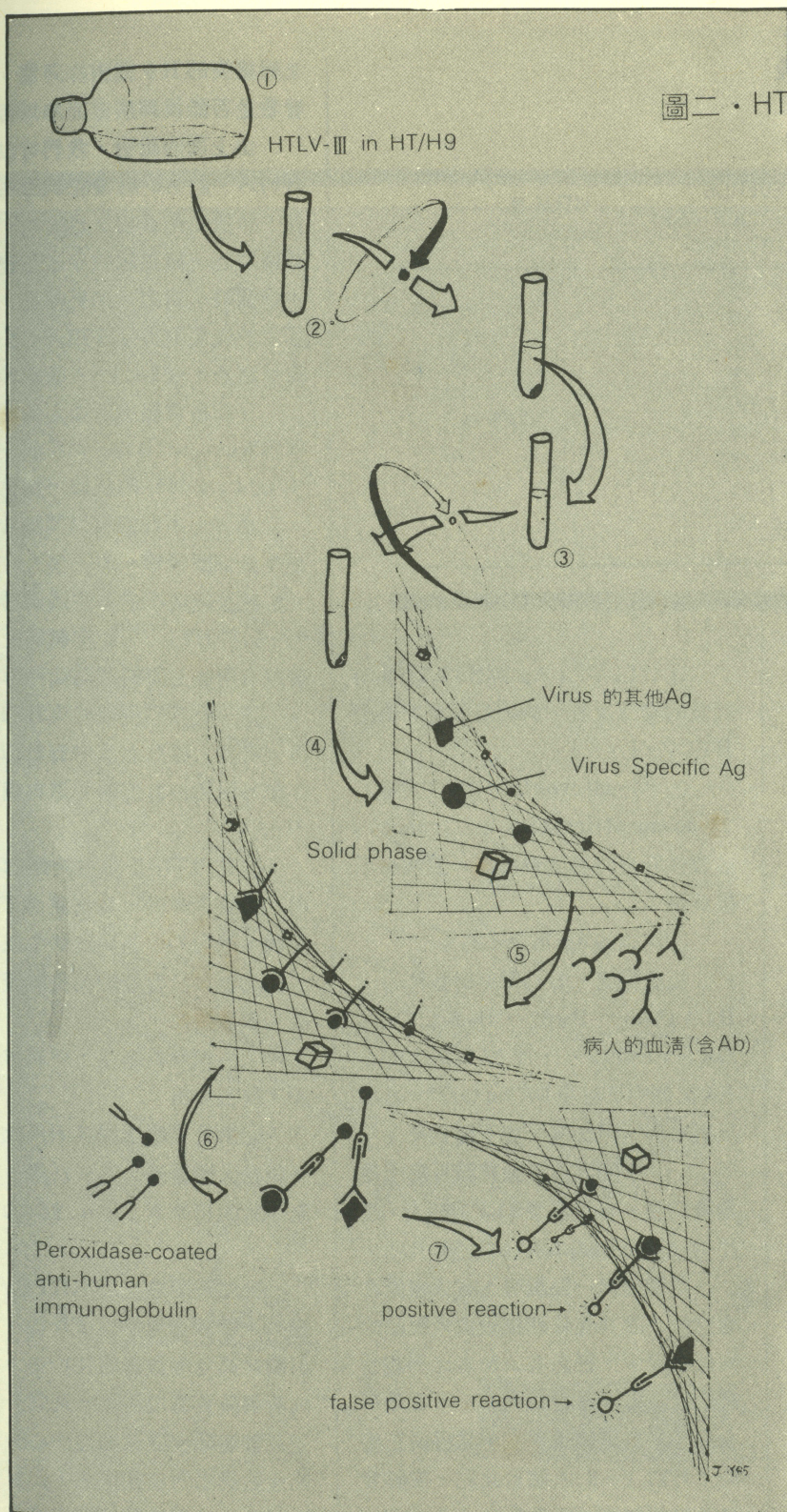
那麼 HTLV-III 抗體的篩選試劑，為何會出現偽陽性、偽陰性反應呢？要說明這個問題，首先要對目前所用的方法有所了解。

偽陰性反應可能是下列原因所造成：

- ① 試劑 (抗原) 在處理過程中變性。
- ② 病人血液中之抗體已與抗原結合，故無法測出。
- ③ 病人血液中只有反應較弱的抗體。

在表十<sup>20</sup> 中我們可以看出 HTLV-III 之抗原具多樣性，除了表中所列種類，尚有 15, 18, 21, 22, 23, 28, 32, 39, 41 - 45, 48, 55, 60, 61 - 64, 88, 100, 110<sup>21</sup>, 130, 150 KDa 等被報導，(其中可能有部分是指同一分子)。目前我們對其抗原了解尚不清，可能 18, 22<sup>22</sup>, 24<sup>23</sup>, 25<sup>21</sup>, 39, 48<sup>24</sup>, 55 為 core Ag 的一部分或其前趨物 (

圖二 · HTLV-III 的篩選實驗



篩選HTLV-III抗體：  
目前係採用酵素連結免疫吸附法(ELISA)  
①首先把HTLV-III養在HT/H9細胞株內(這是一種由人類淋巴性白血病患者之白血球所培養而成的細胞)，大量繁殖後  
②將培養基離心，再取出上清液(含病毒)  
③以PEG沈澱病毒後離心分離病毒  
④再將病毒以SDS打破，將所要的蛋白(抗原)純化後，吸附在塑膠小球上(或試管內壁)；作成商品出售。  
⑤使用時則將病人血清加入。  
⑥反應後再加入goat anti-human IgG Ab (peroxidase-labeled)  
⑦再加入呈色劑O-phenylene diamine及H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 再加入H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 來停止反應

測試時病人血清作雙份，同時要作正、負對照組。以波長490 nm測其透光度(Optic Density = OD)，當病人的血清中含有HTLV-III抗體時(含IgG, IgM)，上述反應就會呈色，當此OD值比上對照組的OD值大於或等於3時，即稱為正反應。

表十：此表指在九個患者的血清檢查結果第二欄指以Western Blot測得的Ag Reverse Transcriptase Activity是病毒的生理指標，可以測知病毒是否在體內繁殖。最右欄是血清與H9細胞株共置，找到病毒與否的結果。

SAMPLE NO	WESTERN BLOT BANDS	REVERSE, TRANSCRIPTASE ACTIVITY	HTLV-III RECOVERED
1	41,56,66	1.19	-
2	17,51,56,66,80	2.68	-
3	17,24,66	1.89	-
4	17,24,41,51,66	2.35	-
5	17,24,55	1.50	-
6	17,24,41	1.44	-
7	24	1.61	+
8	24	3.11	-
9	51,65	6.08	+

未經感染的H9細胞株同置、培養，看看是否能找到病毒而加以否認。

由上面的說明，我們可以發現HTLV-III Ab的確認試驗有其必要性，而這也是目前所鼓吹的。然而理想歸理想，確認試驗除了花費高外，也很費時、費力。如果採行，可能也僅用於低危險群呈HTLV-III Ab陽性反應者，或ELISA呈臨界值者。

目前在實驗室所採用的確認實驗稱為Western Blot。目前一般以含有p24, gp41的抗體，作為正反應。但由表中我們可以清楚看出事情並不是那麼簡單。有一些人在HTLV-III感染後並不是產生這兩種抗體。

對於HTLV-III抗體的檢驗，目前還有兩個主要的問題尚待解決。

第一是我們發現感染HTLV-III後，有些人雖然血液中有HTLV-III存在，但卻沒有抗體。這有幾種可能<sup>27</sup>：

①HTLV-III存在於OKT4細胞內，由於生長慢，其抗原尚未與外界接觸，因而無法誘發抗體生成。

②由於全盤性的免疫障礙，無法產生新種抗體。

③抗體雖然產生，但為抗原所中和，無法測出。

④由於某種未明原因，此等病毒不能在人體繁殖，造成疾病，而成為無症狀的帶原者（佔4/96的AIDS病人）

第二個問題在於把HTLV-III抗體列入常規捐血檢驗項目後，可能吸引屬於高危險群者前往捐血，從而使血液製品更易受污染。而這一點並不是危言聳聽。雖然捐血中心一再呼籲高危險群者勿前往捐血，但目前血液製劑仍然受到污染，而由高危險者往往急切想要知道檢查結果一事看來，

precursor)，而65<sup>24</sup>，41，100，110，150<sup>22</sup>為envelope Ag或其前趨物。41 KDa的抗原，可能係主要的抗原，65 KDa可能係其前趨物質，而100 KDa可能也是其前趨物，或是由另一段pX基因與envelope gene共同經譯訊作用而成的融合蛋白(fused protein)。另一個重要的抗原是p24(表24 kilo Dalton的protein)，55可能是其前趨物。在HTLV-III抗體濃度高時(如高危險群者，pre AIDS，或無症狀者)(主要是titer > 1/1250時)，p24的抗體才偵測的到。一旦成為AIDS，HTLV-III抗體濃度下降，p24的抗體便減少。相反的，gp41，gp110(gp指糖蛋白glycoprotein)的抗體隨時可測到，但在約1/10感染HTLV-III，但卻無症狀者卻找不到gp41的抗體<sup>18</sup>。而只有p24的抗體，而無gp41的抗體時，很容易出現偽陰性的結果。

而偽陽性的反應又是為何出現呢？目前的解釋是：

①HTLV-I Ag與HTLV-III有輕微的交叉反應，病人可能是感染HTLV-I。

②β<sub>2</sub>-microglobulin在癌症(lymphoproliferative malignancy)或慢性肝炎時濃度會提高，或許會干擾反應。

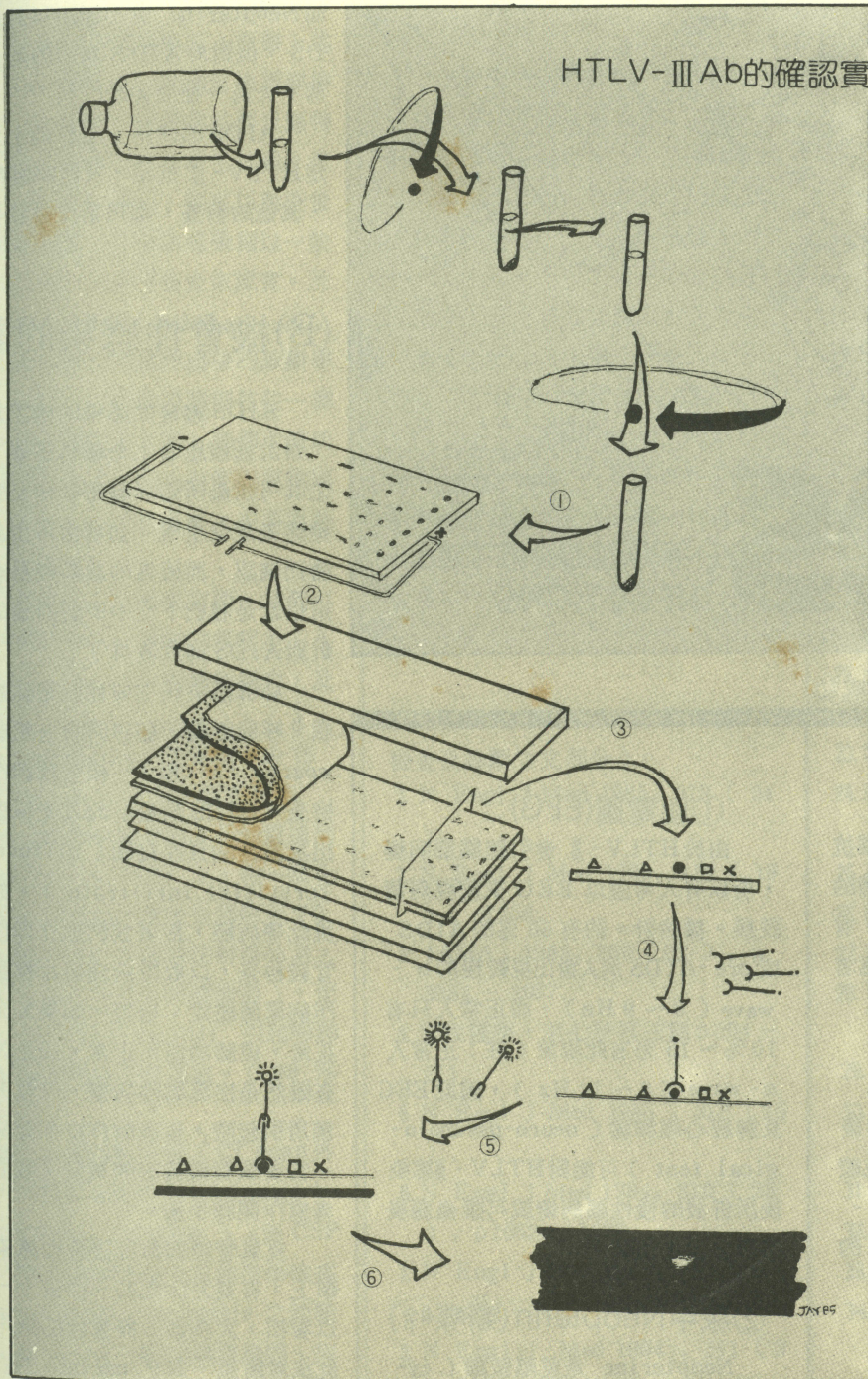
③試劑的Ag可能不純。

根據研究，HT/H9細胞株的HLA為A<sub>1</sub>，Bw62，Bw6，Cw3，DR<sub>4</sub>，DQw3<sup>25</sup>，而27%的ELISA試劑中，呈現DR-4(+) <sup>26</sup>。此種反應雖弱，但仍有可能干擾結果。

④其他自體抗體可能干擾檢驗結果。目前發現SLE的病人，往往在Abbott ELISA出現陽性反應。

附帶提出一點說明，有人懷疑在血友病，或其他長期接受血液製品的高危險群中，雖然有Ab者比例相當高，但說不定只是輸入Ab，或是不含病毒的抗原所致，並不見得真正感染了HTLV-III。關於此點，或許我們可以直接測其逆轉錄酶(Reverse transcriptase)，或將病人血液與

### HTLV-III Ab的確認實驗：Western Blot



①把打破的病毒先跑膠(gel electrophoresis)，利用不同分子量的蛋白質，在SDS-polyacrylamide上跑的速度不同的性質將蛋白質(抗原)分離  
 ②而後將此膠與NC濾紙(Nitrocellulose paper)併置，大概放兩天後，Gel上的蛋白質會跑到NC濾紙上，位置不變。接著把濾紙裁成長條，將來如果確認試劑商品化，可能售出的就是這些濾紙條(Virus strip)  
 ③然後我們讓病人的血清與此濾紙條充分作用後  
 ④再加入附  $^{125}\text{I}$  labeled goat anti-human immunoglobulin，若病人血清中含有HTLV-III的抗體，此抗體就可以與濾紙上的抗原結合而留在濾紙條上  
 ⑤隨後含有  $^{125}\text{I}$  的goat antihuman immunoglobulin抗體才可藉此HTLV-III的抗體而留在濾紙上  
 ⑥而後在X-ray底片上曝光，便可以很清楚看出病人血液中是否含有抗特定病毒成份的抗體