

tensive care unit; risk factors and mortality[J]. J Crit Care, 2009, 24(4):9-14.

[15] 李立艳, 魏殿军, 门昆, 等. 天津地区耐亚胺培南铜绿假单胞菌 blaIMP-1 及相关整合子分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(3):290-292.

[16] 王贵年, 姜波, 吴金英. 铜绿假单胞菌产金属 β-内酰胺酶的临床调查研究[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(10):899-901.

[17] 周志慧, 张俊丽, 瞿婷婷, 等. 我国 28 家医院中铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素的耐药性及同源分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(11):1228-1232.

[18] 将景华, 陈文光, 章泽豹, 等. 244 株铜绿假单胞菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(12):1576-1577.

(收稿日期:2012-01-06)

• 经验交流 •

骨髓细胞化学染色对急性白血病分型的诊断意义

朱 竑¹, 崔 雯²

(1. 天津市公安医院检验科, 天津 300042; 2. 中国医学科学院中国协和医科大学血液学研究所血液病医院, 天津 300020)

摘要:目的 利用细胞化学染色方法对各型急性白血病(AL)进行鉴别诊断。方法 对 188 例门诊和病房初诊 AL 患者的骨髓标本做细胞化学染色测定, 对其结果进行分析。结果 MPO 和 SBB 的阳性指数强弱顺序均为 M3>M2b>M2a>M6>M4>M1>M5>ALL, AS-D NCE 的阳性指数强弱顺序为 M3>M2b>M5>M2a>M4>M6>M1>ALL, α-NAE 的阳性指数强弱顺序为 M5>M3>M2b>M2a>M4>M1>M6>ALL, PAS 的阳性率及阳性指数在不同类型的急性白血病中相差不大, 但是形态表现各有特点。结论 细胞化学染色是鉴别各型 AL 的重要手段, 可以提高诊断的准确性, 为临床治疗提供指导。

关键词:白血病, 髓样, 急性; 白血病, 单核细胞, 急性; 过氧化物酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.048

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)17-2142-02

急性白血病(AL)是一组恶性克隆性造血干细胞疾病, 恶性克隆的细胞生物学行为异常主要体现在干细胞分化受阻、增殖过度和凋亡受阻^[1]。临床常见的急性白血病有急性髓系白血病(AML)和急性淋巴细胞白血病(ALL)两个主要类型。我国 20 世纪 70 年代白血病年发病率以浙江、江苏、福建和上海为最高^[2], 且近 5 年患者数明显多于前 5 年, 确诊例数呈稳步上升趋势^[3]。世界卫生组织(WHO)白血病诊断标准要求白血病的诊断方法是细胞形态学、免疫学和细胞遗传学的实验室诊断、临床症状、体征的联合诊断法^[4], 其中细胞化学染色是临床常用的诊断方法, 它对鉴别急性白血病的类型、鉴别诊断、疗效观察和预后评估起着十分重要的作用。本文对 188 例 AL 的骨髓细胞化学染色结果加以分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 10 月至 2012 年 2 月中国医学科学院中国协和医科大学血液学研究所血液病医院门诊和住院的初诊各类型 AL 患者 188 例, 其中男 104 例, 女 84 例。患者年龄 2~84 岁, 平均 33 岁, 其中 12 岁以下儿童 44 例。这 188 例均经染色体核型、分子生物学、流式细胞学、电镜和骨髓病理等检查确诊。

1.2 仪器 光学显微镜(日本 Olympus)、隔水式电热恒温培养箱(上海医疗器械七厂)。

1.3 方法 将新鲜的骨髓涂片置 4℃冰箱干燥保存, 7 d 之内染色。染色前将标本平衡到室温再从标本盒内取出, 不同染色方法选取不同的固定方法固定涂片后方可进行染色。髓过氧化物酶(MPO)染色采用二氨基联苯胺法, 苏丹黑 B(SBB)染色采用苏丹黑 B 染色法, 氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶(AS-D NCE)染色、α-萘酚萘酚酯酶(α-NAE)染色、氟化钠(NaF)抑制试验采用六偶氮副品红法(Yam 法), 糖原染色(PAS)采用过碘酸-雪夫反应。

1.4 结果判定 在油镜下观察骨髓片的体尾交界处, 按照组

化的常规方法计数片中 100 个原始及幼稚细胞的阳性率, 将阳性率分为+、++、+++、++++ 4 个级别, 计算阳性指数并对白血病的类型加以分析。

2 结果

188 例 AL 患者中 M1(急性粒细胞白血病未分化型)2 例, M2(急性粒细胞白血病部分分化型)48 例(包括 M2a 30 例和 M2b 18 例), M3(急性早幼粒细胞白血病)10 例, M4(急性粒单核细胞白血病)6 例, M5(急性单核细胞白血病)46 例, M6(急性红白血病)6 例, ALL 70 例。各类型白血病的阳性指数见表 1。

表 1 不同染色方法在各类型白血病中的阳性指数

分型	n	MPO	SBB	AS-D NCE	α-NAE	NaF	PAS
M1	2	66	105	2	25	22	104
M2a	30	173	225	81	60	56	111
M2b	18	195	236	169	77	72	103
M3	10	302	371	224	92	88	160
M4	6	141	191	77	46	23	107
M5	46	57	92	145	115	11	109
M6	6	161	211	40	19	12	125
ALL	70	0	0	0	14	12	87

3 讨论

细胞化学染色是以细胞形态学为基础, 综合运用化学反应的原理对血细胞内的各种化学物质(包括酶类、脂类、糖类、铁、蛋白质、核酸等)作定性、定位、半定量分析的方法^[5]。MPO 是粒细胞进入循环之前在骨髓内合成并贮存于嗜天青颗粒中的一种血红素蛋白酶, 主要存在于中性粒细胞、单核细胞和某些巨噬细胞中, 其主要功能是破坏生物氧化过程中有毒的过氧

化物,使其放出氧,参加细胞内氧化还原过程,是一种与生物氧化有关的重要酶类^[6-8]。本实验结果显示 MPO 的阳性指数强弱顺序为 M3>M2b>M2a>M6>M4>M1>M5>ALL。M3 细胞的 MPO 均呈强阳性反应且在细胞上可见到柴束样的 Auer 小体;M2b 的细胞也为强阳性且在异常中幼粒细胞的凹陷处呈团块样阳性反应;M2a 的细胞阳性指数较 M2b 稍差,这与原始细胞的数量有关;6 例 M6 中有 3 例 M6 的原始细胞以粒细胞为主,其 MPO 也较高;6 例 M4 中有 2 例 M4a 和 4 例 M4b,其 MPO 阳性指数较 M6 稍低;M1 中有大量的原始粒细胞所以部分细胞的 MPO 为弱阳性;M5 以大量原始和幼稚单核细胞为主,所以 MPO 阳性率较低;ALL 的 MPO 均为阴性反应,所以过氧化物酶在诊断 AL 的类型方面是首选的细胞化学染色方法。实验结果显示 SBB 的阳性指数明显高于 MPO,说明 SBB 染色有较高的敏感性,在 MPO 反应阴性时 SBB 也可呈阳性反应,而且不受标本陈旧的影响,其强弱顺序为 M3>M2b>M2a>M6>M4>M1>M5>ALL,与 MPO 染色结果和临床意义相似。AS-D NCE 几乎只存在于粒细胞中,由于其特异性强,又被称为特异性酯酶。AS-D NCE 在少数分化好的早幼粒细胞至成熟中性粒细胞阶段呈阳性反应,其通常被作为粒细胞的标志酶。实验结果显示 AS-D NCE 的阳性指数强弱顺序为 M3>M2b>M5>M2a>M4>M6>M1>ALL,其中 M1 和 M2a 的阳性率明显低于 M3 和 M2b,说明 AS-D NCE 对于原始粒细胞的阳性反应较弱,而且 M3、M2b、M2a、M1 时 AS-D NCE 的阳性指数也明显低于 M3、M2b、M2a、M1 时 MPO 和 SBB 的阳性指数,说明其敏感性低于 MPO 和 SBB。但是 AS-D NCE 在 M5 时阳性指数明显高于 M2a 和 M1,也明显高于 M5 时 MPO 和 SBB 的阳性指数。AS-D NCE 对 M1、M2a 的原始、早幼粒细胞的敏感性不如 MPO、SBB 强,所以单用 AS-D NCE 作为诊断 M1、M2a 以及鉴别 M4 中粒细胞、单核细胞指标值得商榷^[9]。 α -NAE 是一种非特异性酯酶,存在于单核细胞、粒细胞和淋巴细胞中,是单核细胞系的标志^[10],它与 NaF 的联合检测是 AL 鉴别诊断的重要方法。实验结果显示 α -NAE 的阳性指数强弱顺序为 M5>M3>M2b>M2a>M4>M1>M6>ALL。在 NaF 试验中结果显示 M5 的阳性率明显降低,大部分阳性被 NaF 抑制;M3、M2b、M2a、M1、ALL 的 NaF 试验的阳性率与 α -NAE 相比相差不大,阳性不被 NaF 试验抑制;6 例 M4 中有 4 例 M4b 的 NaF 试验的阳性率明显下降,阳性被 NaF 试验抑制;6 例 M6 中有 3 例 M6 的原始细胞以单核细胞为主,其 NaF 试验的阳性率明显下降,阳性被 NaF 试验抑制。PAS 结果显示不同的 AL 其 PAS 阳性指数差异不大,但是不同类型的细胞在 PAS 的形态表现各有特点,PAS 在粒细胞中呈细小颗粒的均匀红色,一般随着细胞的成熟阳性率也随之增强;分化好的单核细胞多为阳性反应,为细颗粒弥散状、中粗颗粒往往位于胞浆边缘;淋巴细胞大多数呈阴性反应,少数胞质内有少量红色颗粒或呈块状。实验结果显示 M3 时 PAS 为密集的细颗粒弥散状,粗大颗粒多分布于胞浆边缘及外浆,柴束状结晶易见;M2a 和 M2b 时 PAS 细颗粒弥散状分布;M5 时 PAS 多为细颗粒弥散状,边缘及外浆处可见粗颗粒,少数可见裙边样反应;M4 时根据粒系统和单核系

统所占的比例不同,其 PAS 的反应也不同;在 M6 时原、早红细胞比例增多,幼红细胞 PAS 呈阳性反应,为粗大的颗粒状、珠状、块状;M1 时 PAS 呈细颗粒弥散状分布;ALL 时原、幼淋巴细胞增多,PAS 大多呈粗颗粒散在分布,也可呈珠状、块状,所以根据 PAS 的阳性指数和反应情况可辅助诊断急性白血病的类型。

白血病骨髓形态学检查是白血病诊断的基础,但是单独考虑形态学,有时不能区分细胞的类型及分化成熟的程度,具有一定的局限性^[11-12]。所以形态学与细胞化学染色的联合应用是急性白血病鉴别诊断中不可或缺的重要手段,可以为临床医生提供及时、准确的诊断依据。但是形态学与细胞化学染色也有其局限性,对于一些起源早、分化差的粒细胞白血病以及高度异质性、杂合型白血病和初转化型的白血病不能确定其亚型^[13]。因此 AL 的诊断要把临床作为前提,把形态学作为基础,还要结合免疫学、细胞遗传学和分子生物学检验(MICM)的方法综合分析加以判断。

参考文献

- [1] 霍菲菲,刘欣,孙自敏,等. 397 例急性白血病细胞遗传学与 FAB 分型相关性研究[J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(1):6-10.
- [2] 李君,王茂生,杨淑莲,等. 急性白血病 1 040 例临床类型及发病相关因素构成比分析[J]. 临床血液学杂志,2011,24(3):178-179.
- [3] 庞丽萍,徐海蝉,许蕾,等. 急性白血病 1 056 例资料分析[J]. 白血病·淋巴瘤,2009,18(8):471-472.
- [4] Steven HS, Elias C, Nancy LH, et al. WHO classification of tumor of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. 4th edition. Geneva Switzerland: World Health Organization, 2008:14-36.
- [5] 许文荣,王建中. 临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007:74-77.
- [6] Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase[J]. Biochemistry(Mosc), 2004, 69(1):4-9.
- [7] 江雁,穆红,唐志琴,等. 急性白血病系列特异性抗原表达分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(6):532-534.
- [8] 陈方平. 临床检验血液学[M]. 北京:高等教育出版社,2006:55-57.
- [9] 崔雯,车春兰,钱林生,等. 特异性酯酶在急性非淋巴细胞白血病亚型分类中的价值探讨(附 203 例观察结果)[J]. 实用内科杂志,1993,13(4):228-229.
- [10] Scott CS, Den Ottolander GJ, Swirsky D, et al. Recommended procedures for the classification of acute leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 1995, 18(Suppl 1):1-12.
- [11] 王超,李明,刘跃平,等. 骨髓涂片免疫组化在形态学难以诊断的急性白血病中的临床研究[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(6):538-541.
- [12] Mcclatchey KN. Clinical laboratory medicine[M]. Philadelphia, PA: Lippincott Williams Wilkins, 2002:498-499.
- [13] 朱琳,安利,郭淑丽,等. 急性白血病 245 例骨髓细胞形态学诊断结果分析[J]. 白血病·淋巴瘤,2011,20(5):302-304.

(收稿日期:2012-03-13)