

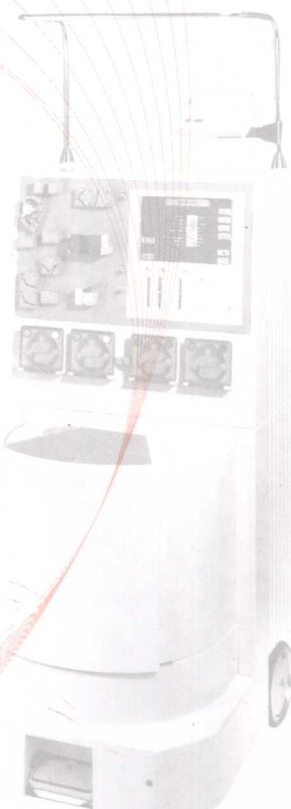
血细胞分离机

——原理与临床应用

主 编 温柏平 杨跃煌



人民卫生出版社



血细胞分离机

——原理与临床应用

主 编 温柏平 杨跃煌

副主编 杨通汉 吴 茜

编 委 (以姓氏笔画为序)

车美华	云南省第二人民医院 副主任护师
孔晋星	昆明医学院附属第一医院 副教授
吴 茜	昆明市儿童医院 教授、主任医师
杨 镛	云南省第二人民医院 副主任医师
杨通汉	云南昆明血液中心 副主任技师
杨跃煌	昆明市儿童医院 教授、主任医师
温柏平	昆明市儿童医院 副教授、副主任医师
撒亚莲	云南省第一人民医院 副主任技师

R446.11
WBP

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

血细胞分离机——原理与临床应用/温柏平等主编.

—北京: 人民卫生出版社, 2007. 12

ISBN 978-7-117-09361-3

I. 血… II. 温… III. 血细胞—分离器 IV. TH788

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 163636 号

血细胞分离机——原理与临床应用

主 编: 温柏平 杨跃煌

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京市安泰印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 12

字 数: 284 千字

版 次: 2007 年 12 月第 1 版 2007 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-09361-3/R·9362

定 价: 25.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

序 1

在人类与疾病斗争的数千年历史中,西方和东方文化都把血液视为“神圣和不可侵犯”的“高贵”液体。从古代中国人(1000 B. C)的“血液灵魂说”到古希腊的希波克拉底(Hippocrates, 400 B. C)提出的“四体液说”(即血液、黏液、胆汁和忧郁液,被认为是西方医学的基础),无不充满了人们对这种鲜红液体的敬畏情结。据史书记载,古老的埃及人(2500 B. C)可能是目前已知的最早采用放血疗法治疗疾病的民族。现代血液成分采集技术不仅传承了这种古老的放血疗法,而且大放异彩的现代技术使这一疗法更是百尺竿头、更进一步!文化和科技的传承在这里得到了很好的印证!

现代血液分离采集技术始于 20 世纪初,且在 20 世纪 40~50 年代得到了快速发展。一方面是由于战争中大量伤员需要血液;另外一方面是血液分离技术的限制不能满足对各种血液成分的需求。正是由于这样的原因,同盟国大大加快了在血液制品方面的研究。从 Cohn 和 Latham 离心机的问世,再到 IBM 高级工程师 Mr. G. Judson 为了自己患慢性粒细胞白血病的儿子而立志研究血液分离技术的雄心壮志,其中无不充满了全人类对这项技术的憧憬和期盼!那感人的场面或许也曾经令我和编者们的热泪盈眶!

回眸千年、展望未来。在此,我恳请分享现代科技进步的人们久久牢记为人类血液及医学事业做出重大贡献的科学家们!

本书分为 9 章,基本上包含了血细胞分离采集的相关理论和实际问题,并探索性地提出了一些关于规范操作的话题,内容新颖。该书从一种新的角度,立足于实际问题的解决和规范化操作,力图推动血液细胞分离采集技术的进一步应用与发展,较为全面地阐明诸多的现实问题和要求,力求涵盖血细胞分离机应用过程中出现的问题,是一本实用性很强的医学专著。

我深信,该书的出版必将推动血液细胞分离采集技术和外周血造血干细胞移植技术在国内的进一步应用,使之向更加规范、更加安全和更加可靠的方向发展,定会让更多的患者受益。在此,我向编写此书的温柏平、杨跃煌等专家表示祝贺!感谢他们为发展医学事业做出的贡献!

陳勳儒

2007 年 7 月于昆明

序 2 (译文)

“Apheresis(单采)”一词源自希腊语,为“减去”或“消除”之意。单采即是将血液分离成其基本的组成部分——红细胞、白细胞、血小板和血浆,并将其中一种或数种成分选择性地从血液中移去的过程。单采技术不仅对某些血液系统疾病,如单克隆性蛋白增高引起的高黏度综合征、血栓性血小板减少性紫癜和冷球蛋白血症,而且对多种自身免疫性疾病,如重症肌无力、吉兰—巴雷综合征、肾小球肾炎、局灶性节段性肾小球硬化症和古德帕斯彻综合征的治疗具有很重要的临床价值和意义。

有两种类型的单采:捐献和治疗。治疗性单采即是将单采技术应用于患者,分别去除病理性的血浆或细胞成分;应用于健康的捐献者,则是出于治疗疾病的目的而收集血小板或外周血干细胞。过滤或亲和层析可清除血浆中的物质成分,差示离心则可去除细胞成分。

单采技术在中国医疗实践和特殊健康问题方面的应用,在本书中均有专门的论述。这些内容不仅适合于从事血液成分分离技术的临床医生和护士阅读,而且,同样适用于血库工作人员参考。全书分为9章。其中两章的内容关注血浆分离采集术以治疗自身免疫性疾病以及治疗性细胞分离采集术去除慢性粒细胞白血病等血液系统疾病的细胞,以减轻肿瘤细胞在体内的负荷。儿童血容量相对小,进行治疗性血液成分分离采集时,需要调整其体外血循环容量,对这个特殊问题另列一章专门论述。对血浆、血小板等血液成分的采集以及采集中和采集后病人和供者的护理,本书作了特别的安排和考虑。本书最后一章的内容是培训从事该项技术的医护人员的建议。

毋庸置疑,该书必将促进单采技术在中国的应用。值此书籍即将面世之际,我向温柏平大夫、杨跃煌大夫表示热烈的祝贺!

Edith Wiener

伊迪丝·威纳

2007年5月于英国伦敦

前 言

血液成分治疗技术发展的历史源远流长。从远古时代的放血疗法到现代血液成分分离采集术,反映出这一技术由原始、简单到高级、复杂的发展过程。时至今日,自动化的现代血液成分采集技术已经相当完善,且完全取代了从前依靠手工操作的方式。正因如此,血液成分分离技术在过去的二三十年里得到了快速发展,而且这一技术还带动了相关产业的发展,使多年来一直强调的成分血输注真正落到实处。

现代血液成分分离采集技术在临床上得到迅猛发展的另外一个原因是外周血造血干细胞移植以及外周血造血干细胞支持下的大剂量化疗。众所周知,如果没有血细胞分离机,进行外周血造血干细胞移植几乎是不可能的,因为很难收集到足够移植数量的外周血造血干细胞。

国内血液成分分离采集技术已经相当普及。但是,仍然存在一些问题。就技术方面而言,与国外相比几乎没有差距。不过,在管理和技术规范等方面的差距是显而易见的,“随意性大”是一个突出的问题。

本书著者多年从事血液细胞分离采集技术的临床工作,且在英、美等国家研修过相关技术和管理方法,颇有一些心得,执笔成书供国内同行参考。其目的有二:一是推动这一技术向更加规范的方向发展;二是引起相关部门或者学会对从业人员资质等问题的重视。

本书内容丰富、实用。书中许多内容来源于实际的工作经验,这是编写本书的一个原则。因此,适合于在临床一线工作的医务人员阅读和参考,特别适合于从事血液病学、造血干细胞移植的医生和护士、输血工作者以及医学院校学生使用。

本书在编写过程中得到了英国著名学府伦敦大学帝国学院(Imperial college) Hammersmith 医院造血干细胞专家 Myrtle Y. Gordon 教授和 Steve Marley 博士提供的帮助。英国皇家病理学会高级研究员、伦敦大学医学院血液病专家 Edith Wiener 博士特意为本书作序。在此向三位专家表示深深的感谢和敬意!

编者十分荣幸地得到昆明医学院附属第一医院血液科杨绵本教授的大力支持和帮助,在此表示崇高的敬意和感谢!另外,云南大学软件学院温晓林为本书的图表设计做了大量的工作,在此一并表示感谢。

特别是陈勋儒先生在百忙之中,不辞辛劳为本书作序。他时时的关心和鼓励是编者们完成编写工作的重要力量源泉。在此,编者们向他表示崇高的敬意!

最后,由于目前国内尚无系统介绍血细胞分离机的书籍,没有可供借鉴的完整作品,因此,本书的章、节安排只能按照作者自己对这一技术的理解和认识来进行,其中定有不当之处,在此作者恳请国内权威人士和广大读者指正。

编 者

2007.10 于昆明

目 录

第一章 血细胞分离机原理、功能与临床应用	1
第一节 血细胞分离机的发展历史	1
第二节 离心式血细胞分离机工作原理	7
第三节 当前市售血细胞分离机的主要类型	11
第四节 血细胞分离机的基本功能	13
第五节 血细胞分离机使用过程中应注意的问题	28
第六节 血细胞分离机的临床应用	30
第二章 外周血造血干/祖细胞的采集、保存与回输	34
第一节 造血干/祖细胞基础知识	34
第二节 外周血造血干/祖细胞的分离采集、保存和回输	43
第三节 肿瘤细胞的污染及微小残留病变细胞的检测	61
第四节 收集产品的二级处理	72
第三章 治疗性血浆交换	78
第一节 血浆置换	78
第二节 选择性去除血浆中的致病物质	89
第三节 血浆交换治疗的疾病分类	95
第四章 治疗性细胞分离采集术	103
第一节 概述	103
第二节 治疗性细胞成分去除与置换术	108
第五章 儿童病人的特殊考虑	115
第一节 儿童体液和血液的生理特点	115
第二节 治疗性血液成分分离采集的几个重要概念	117
第三节 儿童病人血液成分分离采集方法	121
第六章 机采成分血	133
第一节 概述	133

第一章

血细胞分离机原理、功能与临床应用

第一节 血细胞分离机的发展历史

一、“Apheresis”的语源、含义和发展历史

“Apheresis”一词源于希腊语“αφαίρεση”(taking out),意为通过外力或者分离的方法将某物移去或拿走。从身体中放走一部分血液以达到治疗疾病的目的,即放血疗法(phlebotomy, blood letting)。放血疗法源远流长,远古时代的希腊人、埃及人、印度人和希伯来人等民族就知道使用放血疗法治疗疾病。中世纪时期的人们也经常使用水蛭(俗称蚂蟥)吸去人体血液而去除其中的有害物质。尽管在我们现代人看来,这些治疗方法显得原始,但是这毕竟反映了人类在维护自身健康方面的积极探索精神。而且,人类仍乐此不疲地热衷于研究那种带给人们无限神秘和“神圣”的鲜红的液体——血液。

现代血液离心分离采集技术源于1914年美国 Johns Hopkins 医学院的 John J. Abel 及其领导的研究小组。该小组试图利用动物——狗开发人工肾。他们从患尿毒症的狗静脉放血,体外离心分离血浆和细胞成分,然后,去除血浆,将细胞成分添加其他液体后回输患尿毒症狗的体内。经过数次这样的操作,他们发现患尿毒症狗的生存状况明显改善。

第二次世界大战的爆发加速了同盟国对血液分离技术的研究步伐。当时,科学家和医生们一起为如何大规模分离、储存血液成分而努力工作。随着战事的不断升级,当时英国血浆严重短缺,这一状况促使美国发起了一场为英国募集血浆的运动。这一运动由纽约 Presbyterian 医院中心实验室的 Dr. Charles Drew 发起和领导。利用自己开发的分离和保存血浆技术,设计了一种现代化的严格无菌的血浆处理、检测和储存系统,这为大量的血浆通过船运往英国提供了有力的技术保障。

1948年,Dr. Carl W. Walter 开发了一种用于收集储存血液的塑料袋,这一发明给血液处理和储存带来了巨大的变化。在此之前,通常使用玻璃器皿储存血液,由于玻璃器皿容易破碎和污染,而这种强度好、易携带的塑料制品确实给整个血液采集、保存领域带来了革命性的变化。

正是在血液分离、采集、储存、检测等技术方面的一点点的进步和积累使人们逐渐认识到了研究和开发血细胞分离技术的重要性。

在血细胞分离机的发展历史中,Dr. Edwin J. Cohn 和 Latham 分别设计了各自的血细胞分离机的雏形。

20 世纪 50 年代初,Dr. Cohn 开发出了第一台封闭式血液分离机,见图 1-1 所示,又称为 Cohn(血液)离心机。脱钙的血液由下向上流经离心机进入转速 2000rpm/min 离心分离室。该室首先充满血液,然后,开始离心分离过程,不同的血液成分经过不同的管道收集到不同的收集袋。这种离心机属于不连续分离方式,即抽取一分离一返还的循环操作过程。

在此基础上,Latham 对此进行了重新设计。一种新型的更为简单的血液分离机,人称 Latham 离心机(图 1-2)就此问世。这种模式的血液离心机分离效果较好,Haemonetics 公司据此成立。此后推出了 Model30 离心机。Lockwood 及其同事利用该型机器首次在英国伦敦 Hammersmith 医院进行治疗性分离采集。

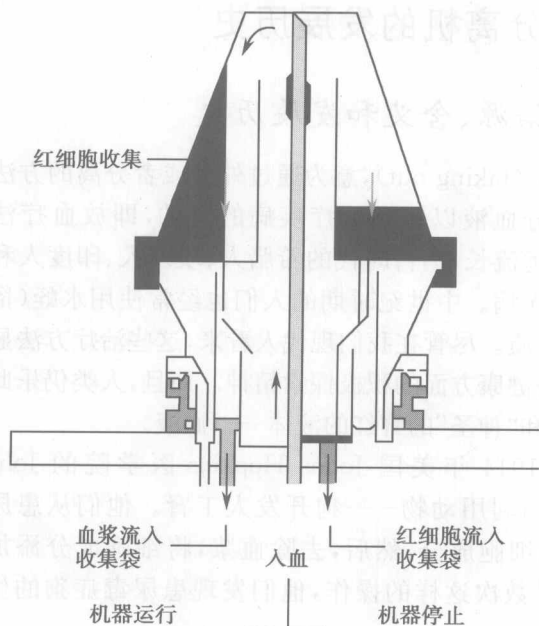


图 1-1 Cohn 离心机

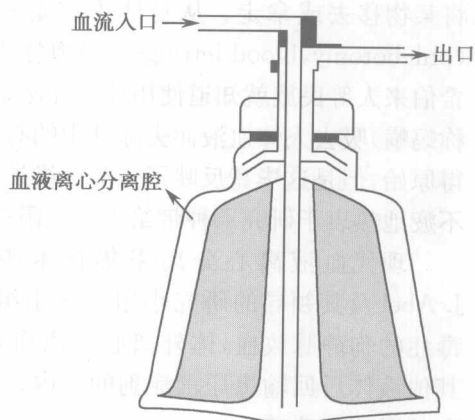


图 1-2 Latham 离心杯

几乎同时,在 20 世纪 60 年代早期,一种新型的血液成分分离技术悄然凸现出来。IBM 的高级工程师 Mr. G. Judson 与美国国家癌症研究所(NCI)的 Dr. Emil Freireich 合作研究一种新型的血液成分分离机,并于 1962 年 6 月开发出了第一台连续式血细胞分离机。从设计到制造,他们都得到了 IBM 的支持。值得一提的是,Mr. G. Judson 对血液成分分离技术的浓厚兴趣源于他家庭的不幸,因为他的儿子患慢性粒细胞白血病。怀揣着治好儿子疾病的梦想促使这位父亲孜孜不倦地工作,并且取得了重要成就。可见,这位父亲对儿子的这份爱是多么真诚和伟大!此后,IBM 于 1966 年推出 2990 型连续式血细胞分离机。1984 年,COBE 获得 IBM 的设计,后来推出众所周知的 COBE Spectra 血细胞分离机。

当前,血细胞分离技术已相当成熟和完善,市场上已有很多厂家的各种型号的机器应用于临床、血库和血液中心。

由于血细胞分离机应用范围的不断扩大,使得“apheresis”词义的内涵和外延更加丰富。国内书刊将其翻译为单采,其实该词本身并无“单”的含义,只是考虑到血细胞分离机应用于分离采集健康供者的血液成分时的一种习惯称谓;但是,当“单采”一词用于临床病人细胞成分去除的时候,这种称谓就不准确,也不恰当。作者认为,到底将“apheresis”译为何意,不能一概而论,其基本的含义是“从整体中分离拿走或去除”。我国台湾学者将“apheresis”一词通常译为“析离(法、术)”。一般将“apheresis”定义为把全血分离为其基本组成成分(如红细胞、白细胞、血小板、血浆等)的过程。

二、血液成分分离采集技术的分类

血液成分分离采集(hemapheresis)有两个目的:一是分离采集健康献血人员的某种或者几种血液成分用于临床输注(此处,可以将“apheresis”翻译为“单采”);二是用于病人时,主要是提供一种治疗手段,以达到治病的目的。在这种情况下可能是分离采集病人的某种细胞成分,如外周血干/祖细胞,也可能是去除体内过高的红细胞(此处,将“apheresis”翻译为“单采”就不准确了)。

(一) 按功能和用途分类

一般而言,当代血细胞分离机具有分离采集多种血液细胞成分的功能和用途。例如,根据所要分离采集的血液细胞成分的不同,将血液成分分离采集(hemapheresis)划分为白细胞分离采集(leukapheresis)、红细胞分离采集(erythrocytapheresis)、血小板分离采集(plateletapheresis 或者 thrombocytapheresis)和血浆分离采集(plasmapheresis),如图 1-3 所示。上述的分离采集方法既可以用于病人或者健康供者,也可以用于血液中心的献血员。

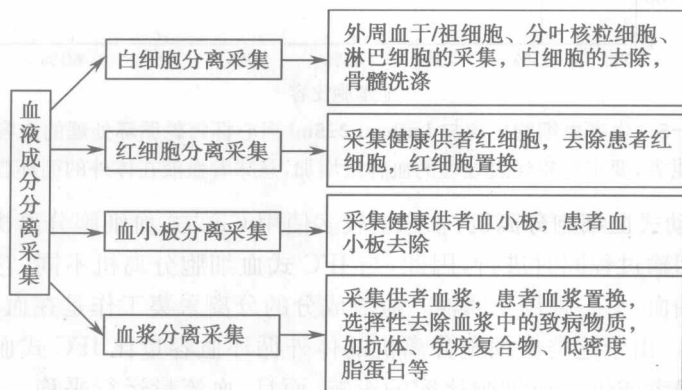


图 1-3 血液成分分离采集的功能和用途分类

(二) 按分离技术原理分类

当前市售的血细胞分离机按其分离技术原理可以将其分为三大类:离心式、滤膜式和吸附式(图 1-4)。离心系统是离心式血细胞分离机的核心装置,根据此类血细胞分离机分离时,血流方式的不同,将其分为间断流动式离心机(intermittent flow centrifuge, IFC)和连续流动式离心机(continuous flow centrifuge, CFC)。

1. 离心式血细胞分离机 这类血细胞分离机应用广泛,分为以下两种类型:

(1) 间断流动式血细胞分离机: IFC 式血细胞分离机工作时,在泵的抽吸和驱动下,血液从静脉血管经过穿刺针,血液经过抗凝后流经分离管路,进入离心杯,开始离心

分离过程。数根收集小管与离心杯和收集袋相连,用于收集不同的血液成分。在离心力的作用下,血浆成分首先得到分离,血小板和白细胞随后也被分离和收集。这一过程完成后,泵反向转动,将红细胞和其他血液成分一同回输给患者或供者。当离心杯中无血液时,整个程序又被启动进行第二轮分离采集,直至达到期望的结果。IFC 分离机的优点是只需一根静脉通路,用于抽血离心和剩余血回输;但是,在临床使用中也有不利的一面。这类分离机运行过程中,体外循环血容量比 CFC 血细胞分离机来得大,而且其体外循环血容量还取决于患者或供者血细胞比容的多少(图 1-5)。因此,临床上将这种血细胞分离机用于贫血患者采集或者其他治疗时,应当密切观察患者血容量的变化及加强护理。

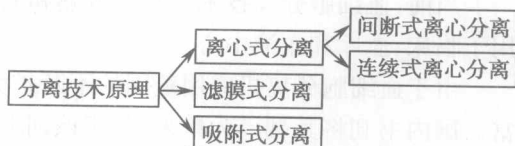


图 1-4 血液成分分离采集的技术原理分类

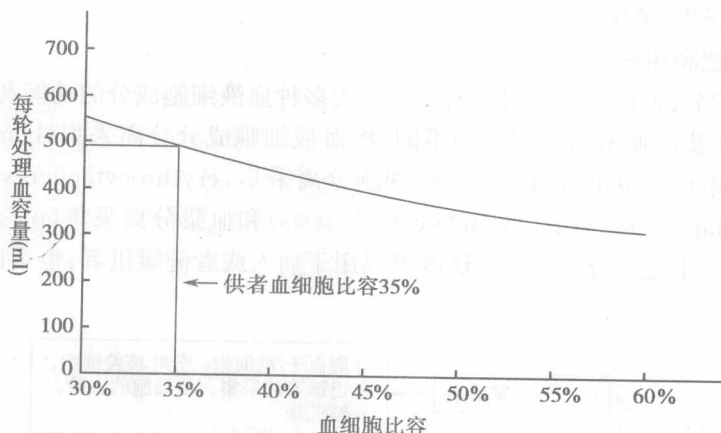


图 1-5 供者血细胞比容与 Latham 225ml 离心杯每轮循环处理的血容量

图中说明低 Hct 供者,要求每轮经过处理的血容量增加,意味着血液在体外的循环容量(ECV)增加

(2) 连续流动式血细胞分离机: 临床上较多使用 CFC 式血细胞分离机。此类分离机运行时,收集和回输过程同时进行,因此,与 IFC 式血细胞分离机不同,它需要两根静脉通路:一根用于抽血;另一根用于回输。血液成分的分离采集工作是在血流连续、不间断的情况下进行的。由于这类血细胞分离机的体外循环血容量比 IFC 式血细胞分离机来得少,一般不受患者或供者血细胞比容的影响,而且,血流量运行平稳。所以,对儿童病人,一般推荐使用连续式血细胞分离机。

2. 滤膜式血细胞分离机 该类型血细胞分离机在临床上的使用范围狭窄,应用有限。这种分离机的功能单一,主要用于患者血浆置换或者供者血浆/血小板的采集,不具有离心式血细胞分离机的多种功能和用途。其工作原理是利用滤膜的分子筛特性,将血浆或者颗粒大小不等的血小板与其他血细胞成分(红细胞、白细胞、粒细胞等)分离,见表 1-1。

表 1-1 血细胞的大小

成 分	直径(微米, μm)
血小板	3
红细胞	7
淋巴细胞	10
粒细胞	13

滤膜器由孔径为 $0.5\sim 0.6\mu\text{m}$ 的中空纤维束组成,当血液在一定压力下通过滤膜时,血浆由中空纤维的内腔渗过膜孔,进入中空纤维的外侧,汇合后被收集。其他细胞成分流经中空纤维内腔汇合于另外的收集管,进而与置换液体混合后回输患者或献血员,如图 1-6 所示。滤膜式血液细胞分离机在临床上的应用有限,本书将不作更多介绍。

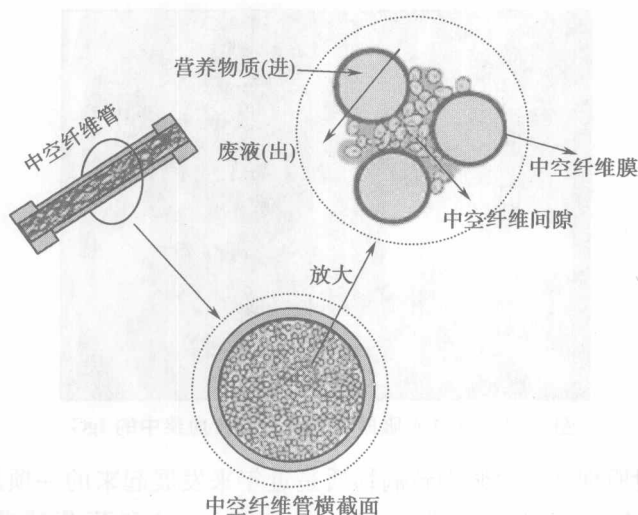


图 1-6 由中空纤维束组成的过滤器示意图

中空纤维类似动物组织的毛细血管,为管状结构,外径一般为 $100\sim 500\mu\text{m}$ 、管壁厚 $50\sim 75\mu\text{m}$,能够截留分子量为 10、50、100kDa 的三类物质。管的直径 $200\mu\text{m}$,管壁为半透膜,纤维间有空隙,圆筒内就构成两个空间:每根纤维的管内为内室;管与管间为外室

3. 吸附式血液成分分离机 该类型血细胞分离机主要应用于临床治疗。过去十几年的临床实践表明,通过这种治疗方法确实能改善某些疾病的症状,对阻止疾病的进展确有帮助。其基本原理是利用特制的免疫吸附柱选择性或者特异地去除血浆中与免疫相关的致病物质(如抗体或免疫复合物),表 1-2 和图 1-7 所示。

表 1-2 利用血浆置换或吸附原理去除血浆中的致病物质

致病物质	疾病
免疫球蛋白	高黏度综合征 华式巨球蛋白血症 多发性骨髓瘤
自身抗体	重症肌无力

续表

致病物质	疾 病
脂蛋白	抗 GMB 抗体疾病
	系统性红斑狼疮
	系统性脉管炎
循环免疫复合物	高胆固醇血症
	免疫复合物性肾小球肾炎
	系统性红斑狼疮
	系统性脉管炎
	急性移植排斥反应

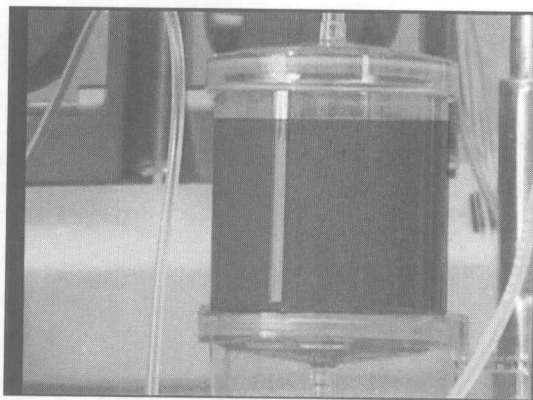


图 1-7 蛋白 A 吸附柱特异性结合血浆中的 IgG

通过免疫吸附原理去除血浆中致病物质是近年来发展起来的一项新技术。其中,利用葡萄球菌蛋白 A 制成的琼脂糖柱(如 immunosorba)和葡萄球菌蛋白 A 硅胶柱(prosorba)已获得美国 FDA 和某些欧洲国家的批准在临床上使用,并取得了较好的效果。表 1-3 列出了一些主要的免疫吸附剂及其吸附的致病物质。

表 1-3 主要的免疫吸附剂一览表

吸 附 剂	吸附的物质
活性炭	胆质酸
肝素	LDL, HDL
葡萄球菌蛋白 A	IgG, 免疫复合物
刀豆蛋白 A	IgM
DNA	抗 DNA 抗体
血型抗原	抗 A, 抗 B
抗 LDL 抗体	LDL
因子 IX	IX 抗凝物

特异性去除血浆中的致病物质是今后血浆置换分离去除术的重要发展方向。利用免疫

吸附或者其他吸附剂特异性地去除血液中的致病物质,对疾病本身的治疗具有很强的针对性和优越性,它与常规使用的血浆置换不同:不需要置换液;不丢失血浆中的正常成分。然而,由于当前吸附柱的价格昂贵(尽管某些吸附柱可以重复使用),限制了它在临床上的广泛应用。但是,它仍具有很高的研究开发价值。本章只作简要介绍,读者请参阅第三章。

第二节 离心式血细胞分离机工作原理

离心式血液细胞分离机利用离心原理,根据细胞大小和密度的不同,在离心力的作用下,细胞的沉降速率也不同,进而使各种血液成分得以分离。这种类型的血液细胞分离机在临床和血液中心的应用广泛,占据整个血液细胞分离机约 95% 以上的份额,而且其应用的范围还不断扩大。离心式血液细胞分离机是当代和将来血液成分分离技术中最重要的—部分。本节将对其工作的科学原理和依据作简单介绍,吸附式血液细胞分离的原理和临床应用本书将不作专门介绍。

一、血液的组成和生物物理学特征

健康成年人的血容量大约占其体重的 6%~8%。血液由液体成分血浆和红细胞、白细胞、血小板等细胞有形成分组成。细胞有形成分所占全血容积的百分比称为血细胞比容(hematocrit, Hct),男性 Hct 平均为 45%,女性为 41%。血细胞比容由红细胞、白细胞和血小板等细胞有形成分的体积共同组成。血浆是血液的液体部分,主要由水组成,其中含有可溶性蛋白和多种离子成分。

哺乳动物的红细胞呈规则的双凹圆盘状,其直径大约为 $7.59\sim 8.50\mu\text{m}$,厚度为 $2.5\mu\text{m}$ 。红细胞具有很强的变形性,能通过细小的血管,以保证将氧气运输至组织,并将二氧化碳运输到肺部。红细胞是血液中含量最多的血细胞成分,占血细胞比容的 95% 以上。同时,红细胞也是所有血细胞中比重最大的细胞,约为 $1.078\sim 1.114\text{g/ml}$ 。

白细胞由 5 种形态各不相同的细胞组成,各自发挥不同的生物学功能,参与机体重要的生理和病理过程。就血细胞的组成数量而言,白细胞是血液细胞成分中数量最少的细胞群体,WBC 与 RBC 的比值大约为 1:1000,因此在血细胞计数中常常忽略 WBC 数量。但是,在自然状态下,与其他血细胞相比,WBC 是最大的球形血细胞,其直径为 $8\sim 16\mu\text{m}$,密度为 $1.050\sim 1.092\text{g/ml}$ 。

血小板是血细胞中最小的细胞成分,直径为 $2\sim 5\mu\text{m}$,其密度也最低,大约为 1.040g/ml ,与血浆的密度十分接近,呈不规则的盘状。尽管它们在血液中出现几率是 WBC 的 40 倍之多,但是,由于其体积小—的原因,所以,对血细胞比容的贡献不大。各血细胞成分的主要生物物理特征见表 1-4 和表 1-5。

表 1-4 红细胞、白细胞、血小板的主要特征

	RBC	WBC	PLT
形状	双凹圆盘状	球形	不规则
密度(g/ml)	$1.078\sim 1.114$	$1.078\sim 1.114$	1.040
表面积(μm^2)	140	330	28

续表

	RBC	WBC	PLT
半径(μm)	4	4~8	1.5
体积(μm^3)	92	200	14
频率($1/\mu\text{l}$)	5 000 000	5 000	200 000

表 1-5 各种血液成分的密度

成 分	比重(g/ml)
血浆	1.025~1.029
血小板	1.040
白细胞	
B 淋巴细胞	1.050~1.060
T 淋巴细胞	1.050~1.061
原始粒细胞/幼稚粒细胞	1.058~1.066
单核细胞	1.065~1.066
中幼粒细胞/嗜碱性粒细胞	1.070
晚幼粒细胞	1.080
杆状/分叶中性粒细胞	1.087~1.092
红细胞	1.078~1.114
网织红细胞	1.078

二、细胞分离的基本知识

(一) 概述

现代细胞分离技术一般是根据细胞的物理学特性和生物化学特性分离出实验或者临床所需要的细胞成分,如图 1-8 所示。这些技术已在现代生物学和医学中得到了广泛的应用,在基础和临床应用研究中占有重要地位。但是,采取哪一种分离方法去获得所需要的细胞成分应当根据具体的实验或者研究目的,以及分离获得的细胞成分的最终用途而定。当然,也应当考虑所需费用和操作的简易、方便程度。血细胞分离机所分离采集的细胞成分一般用于临床输注,如采集健康人的血液成分,患者的外周血造血干/祖细胞等等。因此,血细胞分离机要求的分离采集技术应当是温和的,而且符合临床输注的原则,对患者不会造成伤害。

利用细胞的生物化学特性进行分离采集的细胞成分,不适用于临床,因为这种方法处理细胞过于激烈,常常有其他有害化学物质混杂其中。这些方法分离(包括流式细胞仪分选)的细胞只能用于体外实验。所以,血细胞分离机所采用的分离技术只能是温和的离心或者过滤分离方法。在这种情形下分离的细胞成分与体内细胞的性质、功能基本相同,不变性,适合临床输注的要求。

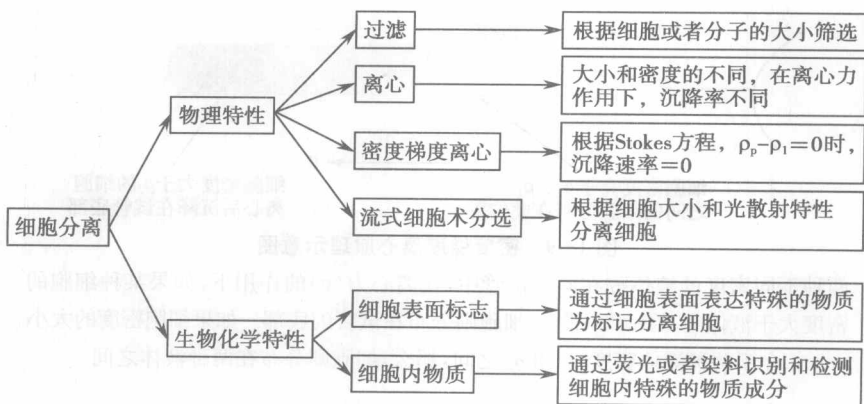


图 1-8 细胞分离原理示意图

(二) 血细胞离心分离的原理

当前，绝大多数血细胞分离机是利用离心原理制作而成。由于红细胞、白细胞、血小板等细胞成分各自有不同的尺寸和密度，当它们在一定的离心介质中同时离心时，其沉降速率各不相同，由此将它们分离。不论是连续式离心分离，还是间断式离心分离，Stokes 方程是进行离心分离的理论根据。表达式如下：

$$\begin{aligned}
 V_g &= -gS_c & g &= R\omega^2 \\
 S_c &= 2r^2(\rho_p - \rho_l)/(9\mu) \\
 V_g &= 2r^2(\rho_p - \rho_l)g/(9\mu) \\
 \text{或者 } V_g &= d^2(\rho_p - \rho_l)g/18\mu
 \end{aligned}$$

这里 V_g 表示细胞的沉降速率； g 表示离心加速度； S_c 表示沉降系数； r 表示细胞的半径； d 表示细胞的直径 ($d=2r$)； μ 表示液体的黏度系数； ρ_p 表示细胞的密度； ρ_l 表示分离液体的密度， ω 表示角速度； R 表示离心机的半径。

从 Stokes 方程可以得出以下重要结论：①血细胞沉降速率与细胞本身的大小 r 呈正比；②血细胞沉降速率与细胞和分离液体的密度差 ($\rho_p - \rho_l$) 呈正比；③分离液体的黏度 μ 增加，血细胞的沉降速率降低；④离心机的转速 ω 增加，血细胞的沉降速率也增加；⑤如果血细胞的密度等于分离液体的密度 ($\rho_p = \rho_l$)，那么血细胞的沉降速率等于零，即细胞颗粒静止不动。这是密度梯度离心分离的理论依据。

当前，广泛应用于临床和血液中心的血细胞分离机几乎都是利用 Stokes 方程的原理设计而成的。在 Stokes 方程中，如果分离介质的密度差 ($\rho_p - \rho_l$) 很低时，细胞密度对沉降速率 V_g 的贡献不大，而细胞大小 (直径 d) 对沉降速率 V_g 的贡献最大。其实，目前多数血细胞分离机主要是根据细胞的大小来分离血液细胞成分的，因为在多数情况下，细胞和分离液体的密度差对沉降速率的影响很小，沉降速率的大小主要取决于细胞的直径。

最近，有研究人员利用密度梯度离心原理设计了一种新型的连续式血细胞分离机，见图 1-9 和图 1-10。尽管这种分离机仍未应用于临床，但是这种分离机还是显示了某些优越性。

密度梯度离心的原理是：密度不同的分离介质紧密放在一起，血细胞样本加在密度最