

现代实用临床医疗

姬 琳等◎主编

下

现代实用临床医疗

(下)

姬琳等◎主编

第十八章 白血病的诊断

第一节 白血病的细胞学检验

一、红细胞检验

(一) 红细胞(RBC)计数意义

红细胞增多见于:

(1) 血液中红细胞绝对值增多, 见于真性红细胞增多症。

(2) 机体长期缺氧, 如高原红细胞增多症, 慢性肺脏疾病, 包括阿耶萨综合征(Ayerza' syndrome), 先天性心脏病等引起继发性红细胞增多。

(3) 能除外大量出汗, 严重呕吐, 腹泻, 休克引起相对性红细胞增多。

红细胞减少见于各种原因引起的贫血, 如骨髓造血功能障碍, 造血原料缺乏, 红细胞破坏过多、过早等。

(二) 血红蛋白(Hb)测定意义

其增减的意义大致与红细胞增减相似, 但在各种不同类型贫血时, 红细胞数与血红蛋白量的减低不一定呈平行关系。如小细胞性贫血时, 血红蛋白含量比红细胞数减少更为明显; 在大细胞性贫血时, 则红细胞减少的程度较血红蛋白减少更为严重。

正常参考值:

表 18-1 血红蛋白及红细胞数正常参考值一览表

	血红蛋白(g/L)	红细胞数($\times 10^{12}/L$)
成人男性	120~165	4.0~5.5
成人女性	110~150	3.5~5.0
新生儿	170~200	6.0~7.0

(三) 红细胞形态学检查

红细胞大小异常包括:

(1) 小红细胞, 直径小于 $6\mu m$, 厚度薄, 常见于缺铁性贫血。

(2) 大红细胞, 直径大于 $10\mu m$, 体积大, 常见于维生素 B_{12} 或叶酸缺乏引起的巨幼细胞性贫血。

(3) 红细胞大小不均, 大小相差 1 倍以上, 常见于各种增生性贫血, 但不见于再生障碍性贫血。

红细胞形态异常包括:

(1)球形红细胞,直径缩小,厚度增加,常见于遗传性球形红细胞增多症、自身免疫性溶血性贫血。

(2)椭圆形红细胞,长径增大,横径缩小,呈椭圆形,见于遗传性椭圆形红细胞增多症,也可见于巨幼细胞性贫血。

(3)镰形红细胞,如镰刀形、柳叶状等,主要见于镰形红细胞性贫血。

(4)靶形红细胞,呈靶形,主要见于珠蛋白生成障碍性贫血、脾切除术后等。

(5)红细胞缗钱状形成,呈平行钱串状排列,见于骨髓瘤、高纤维蛋白原血症等。

红细胞染色异常,红细胞染色深浅反映着血红蛋白含量,包括:

(1)低色素性,红细胞内含血红蛋白减少,见于缺铁性贫血及其他低色素性贫血。

(2)高色素性,红细胞内含血红蛋白较多,多见于巨幼细胞性贫血。

(3)嗜多色性,是未完全成熟的红细胞,呈灰蓝色,体积稍大,见于骨髓造血红细胞功能旺盛的增生性贫血。

红细胞结构异常包括:

(1)嗜碱性点彩,见于硝基苯、苯胺等中毒及溶血性贫血、恶性肿瘤等。

(2)卡波(Cabot)环,可能是幼红细胞核膜的残余物,见于溶血性贫血、某些增生性贫血。

(3)豪-周(Howell-Jolly)小体,可能是细胞核的残余物,见于巨幼细胞性贫血、溶血性贫血及脾切除术后。

二、白细胞检验

(一)白细胞(WBC)计数意义

白细胞增多见于:

(1)急性感染:包括化脓菌感染、杆菌感染等,病毒感染引起传染性单核细胞增多症、乙型病毒性肝炎等,寄生虫感染引起急性血吸虫病等,重度感染时可引起白细胞总数显著增高并可出现明显核左移。

(2)严重烧伤、较大手术后、心肌梗死等引起的组织损伤、坏死。

(3)数量极度增高时,见于恶性肿瘤、白血病,类白血病反应,尤其是慢性白血病。

(4)见于急性失血,尤其是内脏破裂等引起的内出血。

(5)见于急性化学药物有机磷中毒,也见于糖尿病酮症酸中毒、尿毒症等引起的代谢性酸中毒。

白细胞总数减少见于:

(1)革兰阴性杆菌感染,如伤寒、副伤寒沙门菌感染;病毒感染,如流感、病毒性肝炎;寄生虫感染,如疟疾等。

(2)某些血液病,如再生障碍性贫血、粒细胞缺乏症、白细胞减少症等。

(3)自身免疫性疾病,如系统性红斑狼疮,免疫抗体导致的白细胞减少。

(4)理化损伤及药物反应,如苯及其衍生物引起的放射线损伤、化学品中毒,抗癌药等引起的各种反应。

(5)其他,如肝硬化、脾功能亢进等。

(二) 白细胞分类(DC)的意义

中性粒细胞(N)总数的增多或减少的临床意义与白细胞相似。

1. 嗜酸性粒细胞(E)增多见于

(1) 过敏性变态反应, 如药物性皮炎、支气管哮喘、血清病等。

(2) 寄生虫病, 如肝吸虫病、蛔虫病等。

(3) 某些皮肤病, 如湿疹、天疱疮、剥脱性皮炎等。

(4) 急性传染病恢复时, 一般常在起病时细胞数减少, 当开始恢复时可呈现增多, 提示病情好转。

(5) 某些血液病及恶性肿瘤, 如慢性粒细胞白血病、嗜酸性粒细胞白血病等。

2. 嗜酸性粒细胞减少见于

(1) 当肾上腺皮质功能亢进或应用肾上腺皮质激素治疗时。

(2) 急性发热性传染病, 尤其在伤寒、副伤寒、严重烧伤、大手术后。

3. 嗜碱性粒细胞增多见于

(1) 某些血液病如慢性粒细胞白血病、红细胞增多症;

(2) 脾切除术后、疫苗预防注射后等。

嗜碱性粒细胞减少一般无临床意义。

4. 淋巴细胞(L)增多见于

(1) 某些感染, 如病毒感染性疾病、细菌性感染(如结核病)的恢复期;

(2) 某些血液病如再生障碍性贫血、粒细胞减少症可引起淋巴细胞相对性增多; 急、慢性淋巴细胞白血病。

(3) 初生婴儿、儿童的生理性增多;

(4) 淋巴细胞减少大多是相对性减少, 或见于长期接触放射线或应用肾上腺皮质激素治疗后。

5. 单核细胞(M)增多见于

(1) 某些感染如结核病活动期, 亚急性细菌性心内膜炎、疟疾等;

(2) 某些血液病如高雪病、单核细胞白血病, 且可出现原、幼单核细胞。单核细胞减少一般无特殊临床意义。

外周血白细胞正常参考值:

新生儿: $(17.227 \pm 7.391) \times 10^9/L$

1~3岁: $(14.240 \pm 4.275) \times 10^9/L$

4~5岁: $(8.150 \pm 1.995) \times 10^9/L$

成人: $(4 \sim 10) \times 10^9/L$;

白细胞分类计数:

中性粒细胞(N): 0.50~0.70(出生后2天~2岁0.31~0.40)

嗜酸性粒细胞(E): 0.005~0.05 直接计数: $(50 \sim 300) \times 10^6/L$

嗜碱性粒细胞(B): 0.0~0.01 直接计数: $(20 \sim 50) \times 10^6/L$

淋巴细胞(L): 0.20~0.40 直接计数: $(1.684 \pm 0.404) \times 10^9/L$

单核细胞(M): 0.01~0.08 直接计数: $(0.196 \pm 0.129) \times 10^9/L$

未成熟细胞: 0.03~0.10

(三) 白细胞的常见形态变化

1. 中性粒细胞的核象变化包括

- (1) 核右移：主要见于营养性巨幼细胞性贫血、感染恢复期等。
- (2) 核左移：常见于感染，尤以急性化脓性感染最常见。

2. 中性粒细胞的形态异常包括

- (1) 中毒颗粒：常见于严重的化脓性感染、大面积烧伤等。
- (2) 空泡变性：常见于严重感染，特别是败血症，因粒细胞受损发生脂肪变性所致。
- (3) 核变性：临床意义同空泡变性。
- (4) 棒状小体：仅见于白血病细胞中，但在急性淋巴细胞白血病则不出现棒状小体。

3. 淋巴细胞形态变异根据形态特点分为 3 型

除 I 型(单核细胞型)、II 型(浆细胞型)、III 型(幼淋巴细胞型)、IV 型(原淋巴细胞型)外，尚可呈浆细胞样或组织细胞样的异形淋巴细胞，见于：

- (1) 病毒感染性疾病；
- (2) 某些细菌性感染；
- (3) 某些免疫性疾病、药物过敏等。

三、血小板检验

(一) 血小板计数意义

血小板减少见于：

- (1) 血小板生成减少，如再生障碍性贫血、急性白血病、骨髓纤维化、放射线损伤；
- (2) 血小板破坏过多，如免疫性血小板减少性紫癜、过敏性药物损伤；
- (3) 血小板消耗过多，如弥散性血管内凝血、血栓性血小板减少性紫癜；
- (4) 血小板分布异常，如脾肿大，输入大量血浆后血液受稀释等。

血小板增多见于：

- (1) 急性大失血和溶血后可呈反应性增多；
- (2) 骨髓增生病，如原发性血小板增多症、慢性粒细胞白血病、骨髓增殖性疾病等。

(二) 血小板形态检查

正常血小板呈圆形或椭圆形，直径 $2\sim 4\mu\text{m}$ ，含嗜天青颗粒。功能正常的血小板多数成簇聚集，若呈单个分散分布提示血小板功能不良。幼稚血小板体积大，胞质蓝色加深。当血小板异常增生时，呈大小不等，形态异常。

正常参考值：

多次化验检查血小板 $(100\sim 300)\times 10^9/\text{L}$

四、骨髓细胞学检验

(一) 骨髓细胞学检验的临床应用

- (1) 诊断造血系统疾病。
- (2) 帮助诊断某些代谢障碍性疾病。
- (3) 诊断原发性和继发性转移瘤。
- (4) 诊断某些原虫性疾病。

(5)做干细胞培养及染色体检查，以辅助诊断某些类型血液病。

(二)涂片及染色

骨髓液的涂片与染色，要求比较严格，否则将会造成细胞鉴别上的困难，影响检查结果。当骨髓液取出后，应立即涂片，以免凝固，所用的玻片必须绝对干净，将一滴骨髓液置于玻片一端，以一边缘整齐的玻片作推片，涂片方法与血涂片制作相同。涂片宜薄，以免细胞重叠、挤压发生变形。染色常用的方法为瑞氏染色法，与血片染色相同，但染色时间比较长。通常各种骨髓细胞的形态特点是以瑞氏染色法所反应的特点来描述的。

(三)检查步骤

1. 低倍镜检查

(1)首先应在低倍镜下观察取材、涂片、染色是否满意，选择效果最好的涂片进行检查。

(2)骨髓增生程度：是根据骨髓片中成熟红细胞与有核细胞的比例来估计，增生程度一般分为五级。(见表 18-2)

(3)计算巨核细胞：一般低倍镜计算全片巨核细胞的数目，特别是要注意骨髓涂片的边缘及末端，以油镜鉴定细胞发育阶段。

(4)注意观察有无体积较大的特殊细胞，如转移瘤细胞，高雪细胞，尼曼-匹克细胞等。

(5)观察骨髓小粒是否饱满，血小板有无大量聚集等。

表 18-2 骨髓增生程度一览表(分五级)

增生程度	成熟红细胞：有核细胞	常见情况
增生极度活跃	1~4(1)：1	白血病
增生明显活跃	4~20(10)：1	白血病，增生性贫血
增生活跃	20~50(20)：1	正常骨髓，增生性贫血
增生减低	50~100(50)：1	再生障碍性贫血
增生极度减低	150~500(200)：1	再生障碍性贫血

2. 油镜检查

(1)在油镜下对每个细胞作仔细观察分类，一般共计数 500 个细胞，然后计算出各种细胞所占的百分率。

(2)计算粒细胞与有核红细胞的比例：正常为 2~4：1，即各阶段粒细胞的百分率总和比：各阶段有核红细胞的百分率总和的数值。

(3)淋巴细胞数。

(4)单核细胞数。

(5)巨核细胞数。

(6)注意有无特殊细胞(肿瘤细胞)及有无寄生虫。

3. 根据骨髓检查结果，结合血象及临床作出诊断。

(四)骨髓细胞的鉴别要点

骨髓细胞的种类甚多，辨认困难，有些细胞是大同小异，有些则差别较大，如果能抓住它们的共性和个性，掌握其鉴别要点，就能逐步掌握。

1. 原始阶段细胞

共同点：①细胞体积大；②染色质细致有核仁；③胞质呈蓝色或淡蓝色，无颗粒。
不同点，见表 18-3。

2. 粒细胞系统

- (1)原始粒细胞：(见表 18-3)，正常骨髓内约占 0.5%~2%。
- (2)中性早幼粒细胞：胞体较大，12~22 μm，较圆或椭圆形，有大小不等的颗粒，可有核仁或核仁痕迹。染色质较粗糙稍有浓集，蓝色稍浅，呈紫红色，大小形态不一，颗粒分布不均匀可盖在核上或在核周围。正常约占 0.5%~4%。
- (3)中性中幼粒细胞，为圆形，10~18 μm，胞质淡灰蓝色，有分布不均的颗粒。按颗粒性质不同分中性、嗜酸性、嗜碱性三种。正常中幼粒细胞约占 2%~12%，嗜酸性中幼粒细胞约占 0~1%，嗜碱性中幼粒细胞偶见。
- (4)中性晚幼粒细胞：圆形，胞核呈肾形、U 字形、V 字形，染色质更粗糙，排列更紧密，胞质量多，有多量特异性颗粒，正常约占 3%~13%。
- (5)中性杆状核粒细胞：胞体圆，胞质淡粉色，含红色颗粒，核呈带形状，W 字形，S 字形和环形。核质粗糙结块，正常约占 16%~32%(平均 23%)：
- (6)中性分叶核粒细胞：胞质有中性颗粒，各叶间有细丝相连，染色质粗糙结块。呈无色或极浅的淡红色。细胞核呈杆状或 2~5 分叶状。

表 18-3 各种原始细胞形态比较一览表

基本特点	原始粒细胞	原始淋巴细胞	原始单核细胞	原始红细胞
胞体 大小	大	较小	较大	较大
形状	圆，卵圆或有凹陷	圆	不规则有曲折	圆
核膜	不清楚	清楚，边缘染色质密集	不清楚	较清楚
核仁	较小，2~5 个	明显 1~2 个，常为 1 个	大而显著 1~2 个	常不清楚
染色质	细薄沙状均匀分布	粗颗粒状，分布均匀，核膜及核仁周围浓集	纤细网状有起伏不平感	细沙状
胞质量	少	较少	较多	少
色	天蓝透明	蓝，较透明	灰蓝	混浊深蓝

3. 红细胞系统

- (1)原始红细胞：细胞较大，核染色质呈粒状，核仁 1~4 个，核膜清楚。胞质量少呈不透明的深蓝色，常有伪足突起。正常约占 0~1.5%。
- (2)早幼红细胞：体积变小，核染色质变粗，无核仁、胞质为蓝紫色，正常约占 0~2%。
- (3)中幼红细胞：体积较前显著变小，胞核变小，染色质排列甚为紧密，浓集成块，排列如车轮状，其间有明显的空隙，核仁已完全消失，胞质明显增多，呈灰蓝色(开始

有血红蛋白), 少数也可呈蓝色或灰红色, 正常约占 2%~10%。

(4)晚幼红细胞: 呈圆形, 其大小已接近成熟红细胞, 胞核更小, 染色质更紧密成团块, 胞核固缩, 胞质为橘红色, 正常约占 10%。

4. 淋巴细胞系统

(1)原始淋巴细胞: 圆形或椭圆形, 胞核圆形, 染色质粒状, 核仁清晰 1~2 个, 胞质量极少, 染浅蓝色, 无颗粒。

(2)幼淋巴细胞: 圆形或椭圆形, 与原始淋巴细胞大小相仿或稍小, 胞核圆形, 染色质较为紧密, 核仁模糊或不见。胞质稍增多呈淡蓝色, 有少许嗜天青颗粒, 正常约占 0.5%。

(3)淋巴细胞: 按个体有大小之分, 小淋巴细胞呈圆形, 染色质粗糙紧密, 排列均匀, 胞质量极少, 偶见大小不等的嗜天青颗粒。大淋巴细胞胞体较大, 染色质疏松, 胞质丰富, 呈淡蓝色, 有少量大小不等的嗜天青颗粒。

5. 单核细胞系统

(1)原始单核细胞: 正常骨髓中很少见到此细胞, 细胞胞体较大, 呈圆形或不规则形, 染色质疏松呈网状, 核仁 1~3 个明显, 胞质量丰富, 呈毛玻璃样的灰蓝色。

(2)幼单核细胞: 体积有时较原始单核细胞为大, 细胞核形状不一, 为椭圆形, 亦可成折叠或分叶状, 染色质疏松较原始单核细胞为粗, 但仍呈网状, 核仁可有可无, 胞质增多, 灰蓝色, 可见多数细小的嗜天青颗粒。正常骨髓中很少见。

(3)单核细胞: 呈不规则的圆形或椭圆形, 细胞核呈不规则的圆形、椭圆形或肾形, 染色质轻度聚集, 胞质量较多, 呈毛玻璃样半透明, 含有较多细小的嗜天青颗粒。

6. 巨核细胞系统

(1)原始巨核细胞: 常较其他原始细胞为大, $24\mu\text{m}\times 27\mu\text{m}\sim 34\mu\text{m}\times 35\mu\text{m}$ 。外形多为不规则的多边形, 很少呈卵圆形, 胞核大, 呈圆形, 核偏在一旁, 或不规则形。染色质为较粗的颗粒, 呈网状排列, 可有 2~3 个核仁, 但不明显。胞质量较多, 边缘不规则, 染色深蓝色, 不含颗粒, 正常骨髓中很少见。

(2)幼巨核细胞: 比前者稍大, $26\mu\text{m}\times 40\mu\text{m}$, 外形不规则, 核为肾形或不规则形, 染色质较粗糙, 核仁可有可无, 胞质量增多, 形状不规则, 可有伪足, 呈蓝色, 近核周处较淡, 核周有少许嗜天青颗粒, 正常骨髓中约占 0~5%。

(3)巨核细胞: 为在正常骨髓中最大的细胞, 胞核呈不规则或分叶状, 染色质粗糙, 排列很紧密, 胞质多呈均匀的淡紫红或淡红色。内含极细的紫红色颗粒, 胞浆中无血小板形成者为过渡型巨核细胞(颗粒巨), 占正常骨髓细胞的 10%~27%。若胞浆中出现血小板, 即为成熟型巨核细胞(产板巨), 占正常骨髓细胞的 44%~60%。

(4)裸核巨核细胞: 胞质完全血小板化后, 细胞退化而成为裸核。亦可由于巨核细胞脆弱, 在涂片过程中受到损伤, 使核排出而成, 占 8%~30%。

(5)血小板。

(五)细胞的发生与发展

1. 红细胞发生 红细胞发生历经原红细胞(proerythroblast)、早幼红细胞(或称嗜碱性成红细胞, basophilic erythroblast)、中幼红细胞(或称多染性成红细胞, polychromatophilic erythroblast)、晚幼红细胞(或称正成红细胞, normoblast), 后

者脱去胞核成为网织红细胞，最终成为成熟红细胞。从原红细胞的发育至晚幼红细胞大约需 3~4 天。巨噬细胞可吞噬晚幼红细胞脱出的胞核和其他代谢产物，并为红细胞的发育提供铁质等营养物质。

2. 粒细胞发生 粒细胞发生历经原粒细胞(myeloblast)、早幼粒细胞(又称前髓细胞, promyelocyte)、中幼粒细胞(又称髓细胞, myelocyte)、晚幼粒细胞(又称后髓细胞, metamyelocyte)进而分化为成熟的杆状核和分叶核粒细胞。从原粒细胞增殖分化为晚幼粒细胞大约需 4~6 天。骨髓内的杆状核粒细胞和分叶核粒细胞的贮存量很大，在骨髓停留 4~5 天后释放入血。若骨髓加速释放，外周血中的粒细胞可骤然增多。

3. 单核细胞发生 单核细胞的发生经过原单核细胞(monoblast)和幼单核细胞(promonocyte)演变为单核细胞。幼单核细胞增殖力很强，约 38% 的幼单核细胞处于增殖状态，单核细胞在骨髓中的贮存量不及粒细胞多，当机体出现炎症或免疫功能活跃时，幼单核细胞加速分裂增殖，以提供足量的单核细胞。

4. 血小板发生 原巨核细胞(megakaryoblast)经幼巨核细胞(promegakaryocyte)发育为巨核细胞，巨核细胞的胞质块脱落成为血小板。原巨核细胞分化为幼巨核细胞，体积变大，胞核常呈肾形，胞质内出现细小颗粒。幼巨核细胞的核经数次分裂，但胞体不分裂，形成巨核细胞。巨核细胞呈不规则形，直径 40~70 μm ，甚至更大，细胞核分叶状。胞质内有许多血小板颗粒，还有许多由滑面内质网形成的网状小管，将胞质分隔成许多小区，每个小区即是一个未来的血小板，内含颗粒。并可见到巨核细胞伸出细长的胞质突起沿着血窦壁伸入窦腔内，其胞质末端膨大脱落即成血小板。每个巨核细胞可生成约 2000 个血小板。

五、细胞化学染色

(一) 过氧化物酶(POX)染色

原理：联苯胺反应显示 POX 的存在，当此酶活性存在时，它可将底物(H_2O_2)分解产生出新生态氧，进而使无色的联苯胺氧化为蓝色的联苯胺蓝。

意义：POX 主要存在于粒细胞系，除原粒细胞外，随细胞成熟，POX 阳性反应增强(嗜碱性粒细胞反应阴性)。单核细胞系从幼单核细胞起呈弱阳性反应，淋巴细胞系、红细胞系及巨核细胞系则任何阶段均呈阴性反应。本染色法最主要用于鉴别急性白血病细胞类型，急性粒细胞白血病呈强阳性，单核细胞白血病呈弱阳性，急性淋巴细胞白血病呈阴性反应。

(二) 中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)染色

原理：当细胞内的 NAP 活性存在时，在 pH 为 9.2~9.5 的碱性条件下，它可将作用液中的基质 β -甘油磷酸钠水解，释出磷酸，进而与作用液中的钙离子结合，成为磷酸钙沉淀，再经过硝酸钴和硫化胺的作用，生成不溶性硫化钴，呈黑色沉淀定位于胞浆。

临床意义：

(1) 细菌性感染时，NAP 活性明显增高，病毒性或寄生虫性感染时常无明显变化或减低。

(2) 慢性粒细胞白血病时明显减低，类白血病反应时则显著增高。

(3) 慢性粒细胞白血病时 NAP 活性明显减低，急变时活性增强。

- (4) 急性粒细胞白血病时活性减低, 急性淋巴细胞白血病时活性增高。
(5) 再生障碍性贫血时活性增强, 阵发性睡眠性血红蛋白尿时活性减低。

(三) 铁染色意义

原理: 机体多余的铁以铁蛋白及含铁血黄素的形式储存, 在幼红细胞中也有非血红素的含铁小粒。这些铁与铁氰化钾在酸性溶液中发生反应而呈蓝色。

临床意义:

- (1) 鉴别缺铁性与非缺铁性贫血。
(2) 诊断铁粒幼细胞性贫血。

(四) 特异性酯酶(naphthol AS-D chloroacetate esterase, SPE, CE)

CE 通常被看成是粒细胞及肥大细胞的标志酶, 很多报道都强调了它对粒细胞有较强的特异性。1960 年探讨了 SPE 染色原理并应用于临床, 提出此酶主要存在于粒系统里, 在粒系白血病, 原始粒细胞为强阳性反应, 但成熟粒细胞的酶反应下降。

国际血细胞标准化委员会 1985 年推荐, 固紫酱 GBC (fast Garnet GBC salt)法和新品红(new Funchisn)方法。

1. CE 染色原理 细胞内的氯乙酸萘酚酯酶, 在作用液中将氯乙酸 AS-D 萘酚进行水解, 释放氯乙酸 AS-D 与重氮盐偶联产生不溶性有色沉淀, 定位于胞质内。

2. 特异性酯酶染色的临床意义 我们总结 310 例急性白血病, 其阳性率强弱的排列顺序为: M3>M2b>M5>M2a>M4>M6>M1>ALL。

粒系: 原始及早幼粒细胞一般阴性, 少部分可见弱阳性反应(+~++)。自中幼粒阶段以下阶段反应较强, 阳性物充满胞浆, 反应强度为(+++~++++)。部分 M2b 细胞核的凹陷处呈团块状反应。M3 异常早幼粒细胞呈强阳性, 易见柴束样结晶。嗜碱性粒细胞阴性, 个别弱阳性。嗜酸性粒细胞阴性或弱阳性。

单核细胞: 阴性或弱阳性反应(+~++), 阳性物为颗粒状散在分布。

ANLL 中 Auer 小体 CE 可呈阳性。

ALL: 阴性。

NK 细胞: 一般为阳性, 阳性率约在 50% 左右。

其他: 巨核细胞、高雪细胞和尼曼-匹克细胞阴性。海蓝细胞阴性或弱阳性。浆细胞阴性。

组织嗜碱细胞: 强阳性。

(3) SBB(苏丹黑)、MPO(髓过氧化物酶)、SPE 三种染色比较: ①SBB 出现得早, 反应强, 其次是 MPO, 存在于嗜天青颗粒里, CE 出现最晚。②CE 对 M1、M2a 早期粒细胞(原十早)的检出率, 不如 MPO、SBB。③CE 在 M5b 时比相应 MPO 阳性率高, 比 M1、M2a 的 CE 高。④CE 在 M3、M2b 染色时, 阳性率、阳性指数与 MPO、SBB 相平行。CE 染色对鉴别 M2b 与 M2a; M5b 与 M2a、M3b; M2a 与 M3b 都有重要意义。

(五) 非特异性酯酶(non-specific esterase)

非特异性酯酶是一组在酸性、中性和碱性 pH 条件下, 水解各种短链脂肪酸酯或芳香族酯的酶。几乎存在于所有血细胞, 包括巨核细胞、浆细胞, 甚至上皮细胞的溶酶体内。该酶是单核细胞、巨噬细胞的标志酶。根据 pH 不同分为中性非特异性酯酶, 酸性非特异性酯酶, 碱性非特异性酯酶。

底物： α -醋酸萘酚酯酶(α -naphthyl acetate esterase, α -NAE)；萘酚 AS 醋酸酯酶(naphthyl AS acetate esterase, NASAE)；萘酚 AS-D 醋酸酯酶(naphthyl AS-D acetate esterase, NAS-DAE)； α -丁酸萘酚酯酶(α -naphthyl butyrate esterase, α -NBE)。

重氮盐：坚牢蓝 B；固蓝 BB；六偶氮副品红等。

1985 年国际血液学标准化委员会推荐的非特异性酯酶染色方法： α -丁酸盐反应和萘酚 AS-D 醋酸盐固蓝 BB 法。

原理：NSE 是指作用于短链脂肪酸的酶。NSE 水解基质液中 α -醋酸萘酯而产生 α -萘酚，后者与重氮盐偶联生成不溶性有色沉淀定位于胞质中。

临床意义：NSE 主要存在于单核细胞系，从原单细胞到成熟单核细胞其活性逐渐增强。在急性单核细胞性白血病时呈强阳性反应，但其活性能被氟化钠抑制。急性粒细胞性白血病时，有部分病例可呈弱阳性反应，但其活性不能被氟化钠抑制，有助于急性单核细胞白血病与急性粒细胞白血病的鉴别。

(六) 过碘酸-雪夫(periodic acid-Schiff, PAS)反应，又名糖原染色

糖原是人类的一种重要的贮存糖，它是产生能量的重要物质，在化学上糖原是 D-葡萄糖分子组成的聚合体。

1. 原理 过碘酸-碱性品红中的过碘酸是氧化剂，可以使细胞内多糖乙醇基变为乙二醛基。乙二醛基能与无色碱性品红染液(Schiff 液)结合成紫色染料。

2. PAS 染色阳性结果 胞浆内出现紫色颗粒、珠状、块状或片状，细胞核为蓝色。

3. PAS 染色阳性物分布 细颗粒弥散状；中粗颗粒、粗颗粒散在分布；呈裙边样反应；细颗粒弥散状基础上可见小珠；珠状、块状成冠。

4. PAS 染色临床意义

(1)原、幼淋巴细胞 PAS 染色阴性或阳性，阳性反应物多呈中粗颗粒、粗颗粒散在分布；呈珠状和块状围绕核周。成熟淋巴细胞多为细颗粒、中粗颗粒、粗颗粒散在分布。

(2)急性粒细胞性白血病：原粒及早幼粒细胞 PAS 染色呈阴性或弱阳性，阳性反应物多为细颗粒弥散状。异常早幼粒细胞的 PAS 反应呈强阳性，阳性反应物表现为密集细颗粒弥散状，胞浆边缘及外浆处多分布粗大颗粒，在大部分急性粒细胞白血病病例中细胞胞浆内易见柴束状结晶(见图 1-4)，少数病例在细颗粒弥散状基础上可见 1~2 个小珠。

(3)原、幼单核细胞 PAS 染色反应较粒细胞强，阳性反应呈细颗粒弥散分布，部分夹杂中粗颗粒、粗颗粒，胞质边缘及伪足处呈大粗颗粒，少部分在此基础上可见小珠，少数可见裙边样反应。

(4)M4Eo(急性粒单细胞白血病伴嗜酸性粒细胞增多) 异常嗜酸性粒细胞 PAS 染色可见深粉红色小珠。ANLL 中 Auer 小体 PAS 阳性。

(5)微分化型 AL(MO)PAS 染色：阳性反应物可为细颗粒、中粗颗粒散在分布；部分在此基础上可见小珠。

(6)巨核细胞白血病：原始巨核细胞 PAS 染色呈阴性或阳性反应，部分为细颗粒弥散状，部分表现为强阳性，阳性反应物为中粗颗粒、粗颗粒散在分布，部分可见小珠或块状。小巨核细胞 PAS 染色反应物呈细小颗粒弥散状，边缘处为粗颗粒及小珠。

(7)嗜碱性粒细胞白血病中的嗜碱性粒细胞 PAS 染色为强阳性,阳性物多表现粗颗粒、珠状、块状。与幼稚淋巴细胞 PAS 较难鉴别。

(8)急性混合性白血病(AHL)中 PAS 染色部分细胞呈细颗粒弥散状,部分细胞呈粗颗粒、珠状。

(9)浆细胞 PAS 染色弱阳性,一般呈淡粉色看不清颗粒,极少数病例可见粗颗粒和小珠。

(10)高雪细胞 PAS 染色呈强阳性反应;尼曼-匹克细胞为阴性或弱阳性,空泡中心阴性。以此鉴别高雪细胞和尼曼-匹克细胞。

(11)非霍奇金淋巴瘤(NHL)细胞 PAS 染色呈阴性或阳性反应,阳性反应物为中粗颗粒、粗颗粒散在分布;Reed-Stenberg 细胞则为弱阳性或阴性反应。

(12)骨髓转移瘤细胞 PAS 染色大部分呈强阳性反应;腺癌细胞 PAS 染色呈强阳性反应,表现为红色颗粒或块状。

(13)组织嗜碱细胞 PAS 染色强阳性,反应物呈细颗粒弥散状,部分可见大粗颗粒。

(七)酸性磷酸酶(ACP)染色法和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色

抗酒石酸酸性磷酸酶是一组能在酸性 pH 条件下,水解磷酸酯的酶,它定位于溶酶体中,并被认为是这些细胞器的标志酶。1970 年 Li 及 1978 年 Shibata 和 Sakaki 等发现在大部分有核血细胞的胞浆里均存在酶活性。

1. 原理 萘酚 AS-BI 磷酸被细胞内酸性磷酸酶水解,产生 AS-BI 萘酚,再与稳定的重氮盐偶联产生不溶性有色沉淀,定位于胞质内。酸性磷酸酶是一组同工酶,同工酶 5 具有独特抗酒石酸功能。

国际血液学标准委员会推荐的酸性磷酸酶染色法:固紫酱 GBC(fast garnet GBC method);固红 ITR (fast red ITR method);副品红方法(pararosaniline method)。

2. 临床意义 磷酸酶存在于许多造血细胞的溶酶体中,如粒细胞、T 淋巴细胞、浆细胞、单核细胞、巨核细胞、有核红细胞和吞噬细胞系统。用聚丙烯酰胺凝胶电泳证明,人类白细胞的酸性磷酸酶中共有 7 种同工酶(ACP 0、1、2、3、3b、4、5)。同工酶 0 存在于高雪细胞、单核细胞和巨噬细胞;同工酶 1、2、4 存在于中性粒细胞;同工酶 1、4 存在于单核细胞;同工酶 3b 存在于各型 AL 的原始细胞内;同工酶 3 存在于淋巴细胞;同工酶 5 存在于毛细胞,具有独特的抗酒石酸的功能,是毛细胞白血病所特有的。

六、白血病的分类

(一)FAB 分类

白血病的分类根据细胞的分化程度、自然病程的长短,分为急性和慢性两大类,再根据细胞的类型分为若干型。如急性白血病又分为急性淋巴细胞白血病和急性非淋巴细胞白血病。我国一向以细胞形态学(morphology, M)和细胞化学(cytochemistry)为主,我国参照法、美、英三国血液学家共同拟定的 FAB 分类,提出以下分型:

一般类型白血病

1. 急性白血病

淋巴细胞型

非淋巴细胞型

- ①粒细胞白血病：未分化型(M1)；
- ②粒细胞白血病：部分分化型(M2)；
- ③颗粒增多的早幼粒细胞白血病(M3)；
- ④粒-单核细胞白血病(M4)；
- ⑤单核细胞白血病(M5)；
- ⑥红白血病(M6)；
- ⑦巨核细胞白血病(M7)。
- ⑧早期原始髓细胞白血病(M0)

2. 慢性白血病

- ①淋巴细胞白血病；
- ②粒细胞白血病；
- ③粒-单核细胞白血病；
- ④单核细胞白血病。

(二)MIC 分类(除上述形态学分类外，还可以结合免疫学、细胞遗传学进行分型，即MIC 分类。)

1. 形态学分型 1986 年天津召开的白血病分类分型讨论会将 ANLL 分为七型。

诊断标准如下：

(1)急性粒细胞白血病未分化型(M1)：骨髓中原粒细胞(I+II型)≥90%(占非红系细胞)，早幼粒细胞很少，中性中幼粒细胞以下阶段不见或罕见。

(2)急性粒细胞白血病部分分化型(M2)：分两个亚型：①M2a：骨髓中原粒细胞(I+II型)＞30%，＜90%(占非红系细胞)，单核细胞＜20%，早幼粒细胞以下阶段＞10%；②M2b：骨髓中异常原始及早幼粒细胞明显增多，以异常的中性中幼粒细胞增生为主，其胞核常有核仁，有明显的核浆发育不平衡，此类细胞＞30%。

(3)急性颗粒增多的早幼粒细胞白血病(M3)：骨髓中以颗粒增多的异常早幼粒细胞增生为主，＞30%(占非红系细胞)，其胞核大小不一，胞浆中有大小不等的颗粒。可分两个亚型：①粗颗粒型(M3a)：嗜苯胺蓝颗粒粗大、密集甚或融合；②细颗粒型(M3b)：嗜苯胺蓝颗粒密集而细小。

(4)急性粒-单核细胞白血病(M4)：依原粒和单核细胞系形态不同，可包括下列四种亚型：①M4a：原始和早幼粒细胞增生为主，原幼单和单核细胞＞20%(占非红系细胞)；②M4b：原、幼单核细胞增生为主，原始和早幼粒细胞＞20%(占非红系细胞)；③M4c：原始细胞既具粒系，又具单核细胞系形态特征者＞30%；④M4Eo：除上述特点外，有粗大而圆的、嗜酸颗粒着色较深的嗜酸性粒细胞，占5%～30%。

(5)急性单核细胞白血病(M5)：分为两个亚型：①未分化型(M5a)：骨髓中原始单核细胞(I+II型)(占非红系细胞)≥80%；②部分分化型(M5b)：骨髓中原始和幼稚单核细胞＞30%(占非红系细胞)；原单核细胞(I+II型)＜80%。

(6)红白血病(M6)：骨髓中红细胞系＞50%，且常有形态学异常的原始粒细胞(I+II型)，或原始十幼单核细胞＞30%；血片中原粒(I+II型)(或原始单核细胞)细胞＞5%，骨髓非红系细胞中原粒细胞(或原始单核细胞十幼单核细胞)＞20%。

(7)巨核细胞白血病(M7)：外周血有原巨核(小巨核)细胞；骨髓中原巨核细胞＞30%。

原巨核细胞由组化电镜或单克隆抗体证实；骨髓造血细胞少时往往“干抽”，活检有原始和巨核细胞增多，网状纤维增加。

2. 免疫学分型 ANLL的分型主要依靠形态学(包括细胞化学)来区分。主要用于ANLL与ALL的区别。在髓系细胞的分化过程中，CD34出现于粒系-单核系祖细胞(granulocyte-macrophage progenitor cell, CFU-GM)，分化至原始粒细胞阶段消失。CD33、CD13见于髓系分化的全过程。HLA-DR存在于CFU-GM和各期单核细胞。幼稚及成熟期粒、单核细胞表面出现CD11b，粒系表达CD15，单核细胞表达CD14。红系祖细胞(BFU-E、CFU-E)表达血型糖蛋白A。一般来说，ANLL的免疫学分型与FAB分型无明显相关，但少数类型有一定相关，如M4/M5表达CD14，M3缺乏HLA-DR抗原。

3. MIC分型 1986年9月，第二届国际MIC研究协作组制定了ANLL的MIC分类标准。首先根据细胞形态、细胞化学染色及免疫学标志区分ANLL与ALL。

ANLL的特异染色体改变较ALL多见，常有独立的预后价值。根据染色体异常是否与形态学相关分为两大类：

(三)WHO髓系肿瘤及白血病2000年分类

1997年来自美、欧、亚等各大洲的国际血液病学家和肿瘤学家组成的临床医师委员会与病理学家共同讨论，提出血液肿瘤疾病、白血病、淋巴瘤的新分类方法。在白血病FAB、MIC分类方法的基础上，提出了WHO分类法，经过2年的临床试用后，于1999年及2000年对新分类修订，做了进一步的解释和认定，形成WHO2000年分类。下面就WHO2000年分类中关于髓系肿瘤疾病及白血病部分作简单的介绍。

1. 髓系肿瘤疾病(包括髓系白血病) 髓系肿瘤疾病包括骨髓增殖性疾病(myeloproliferative disorders, MPD)、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)、骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病(MDS/MPD)、急性髓系细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML, ANLL)。2000年分类对急性白血病骨髓原始细胞数做了调整，同时取消了骨髓增生异常综合征-原始细胞增多转化型(MDS-RAEBT)。对骨髓增生异常综合征提出新的分类，增加了“难治性血细胞减少伴有多系增生异常”(RCMD)，该类型在临床上没有贫血，仅见白细胞减少或血小板减少，但骨髓存在多系病态造血。对多年来争论较多的慢性粒-单核细胞白血病，意见趋于一致，认为不再列在骨髓增生异常综合征中，另归类在骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病(MDS/MPD)中。在急性髓系细胞白血病中有细胞遗传学异常或分子生物学异常的类型，单独列出，如AML伴有t(8; 21)(q22; q22)、AML1 (CBF a)/ETO。

急性白血病时骨髓原始细胞数：原始细胞数 $\geq 20\%$ 时，诊断为急性白血病；有明显髓系肿瘤染色体异常，在原始细胞数未达20%时，也应诊断为急性白血病；在红系细胞 $> 50\%$ 时，应计算非红系细胞计数(NEC)。红系细胞 $> 50\%$ 时，原始细胞数 $\geq 20\%$ 非红系细胞时应诊断为急性白血病。

(1)骨髓增殖性疾病(MPD)

慢性粒细胞白血病：Ph[t(9; 22)(q34; q11). bcr/abl]+

慢性中性粒细胞白血病

慢性嗜酸粒细胞白血病/高嗜酸性粒细胞综合征

慢性特发性骨髓纤维化

真性红细胞增多症

原发性血小板增多症

骨髓增殖性疾病, 不能分类

(2) 骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病 (MDS/MPD)

慢性粒-单核细胞白血病 (CMML)

不典型慢性髓系白血病 (aCML)

幼年型慢性粒-单核细胞白血病 (JMML)

(3) 骨髓增生异常综合征 (MDS)

难治性贫血

伴有环状铁粒幼细胞 (RARS)

不伴有环状铁粒幼细胞 (RA)

难治性贫血细胞减少伴有多系增生异常 (RCMD)

难治性贫血伴有原始细胞过多 (RAEB)

5q-综合征

骨髓增生异常综合征, 不能分类

(4) 急性髓系白血病 (AML)

I. AML 伴有重排性细胞遗传学易位

AML 伴有 t(8; 21)(q22; q22). AML1 (CBF β)/ETO

APL [AML 伴有 t(15; 17)(q22; q12) 及其变体. PML/RAR α]

AML 伴有骨髓异常嗜酸性粒细胞 [inv(16)(p13; q22) 或 t(16; 16)(p13; q11). CBF β /MYH11]

AML 伴有 11q23 (MLL) 异常

II. AML 伴有多系增生异常

此前有 MDS

此前无 MDS

III. AML 和 MDS, 治疗相关性

烷化剂相关性

表鬼臼脂素相关性 (有些可能是淋巴细胞性)

IV. AML, 不另做分类 (沿用 FAB 标准)

M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7

急性嗜碱性粒细胞白血病

急性全髓增殖症伴有骨髓纤维化

急性双表型白血病

2. 急性淋巴细胞白血病 急性淋巴细胞白血病 (acute lymphocytic leukemia, ALL) 的诊断强调了白血病细胞表面抗原标志, 把急性淋巴细胞白血病分为三种亚型: B-细胞急性淋巴细胞白血病 (B-ALL), T-细胞急性淋巴细胞白血病 (T-ALL), Burkitt 细胞白血病。同时在急性淋巴细胞白血病的诊断中, 重视细胞遗传学异常及分子生物学异常的发现, 如 B-细胞急性淋巴细胞白血病伴有 t(9; 22)(q34; q11); BCR/ABL 重排基因等。不再把急性淋巴细胞白血病分为 L1、L2、L3。

急性淋巴细胞白血病的分类

(1) B-细胞急性淋巴细胞白血病 B-ALL

t(9; 22)(q34; q11); bcr/abf

t(v; 11q23); MLL

t(1; 19)(q23; p13); E2A/PBX1

t(12; 21)(P12; q22); ETV/CBFA

(2) T-细胞急性淋巴细胞白血病 T-ALL

(3) Burkitt 细胞白血病

附 1: 急性髓细胞性白血病

(一) M0 (acute myeloblastic leukemia without cytologic maturation) 急性原始粒细胞白血病未成熟型

M0 发病率非常低, 占急性粒细胞白血病的 2%~3%, 1991 年 FAB 分类原始细胞 MPO SBB 阳性率小于 3%, 表达 CD13 CD33 成人 M0 可表达 CD13 CD33 CD34 TdT, 儿童 M0 可表达 CD34, 不表达或弱表达 CD13。形态学可见原始细胞胞体较大, 染色质较细致并有一个或多个明显的细胞核 N/C 小, 细胞浆嗜碱性, 无嗜天青颗粒及奥氏小体, 在骨髓病理标本中应用免疫组织化学染色技术是近年来发展的一个非常有用的技术

(二) 急性髓系白血病, M1 型 (AML, M1)

急性原始粒细胞白血病低分化型 (acute myeloblastic leukemia With minimal Differentiation)。骨髓中原粒细胞 (I 型和 II 型) >90% (非红系细胞-nonerythroid cells, NEC)。极个别病例存在大量的 III 型原始细胞, 原始细胞 3% 以上 MPO、SBB 阳性。单一的 Auer 小体偶见。早幼粒细胞很少, 中幼粒细胞以下阶段不见或罕见, 单核系细胞 <10% (NEC)。

1. 血象 半数 AML 患者白细胞数增高, 多在 $10 \times 10^9/L \sim 100 \times 10^9/L$ 之间, 20% 的病例甚至 $>100 \times 10^9/L$ 。部分患者白细胞数可正常, 少数患者 (常为 M3 型或老年病例) 白细胞数 $<4.0 \times 10^9/L$ 。80% 患者血红蛋白低于正常值, 甚至出现严重贫血, 网织红细胞常减少。血小板数多数患者减少, 少数正常或轻度增高。

2. 骨髓象 多数患者高度增生, 正常造血细胞被白血病细胞取代; 少数患者骨髓增生低下, 但原始细胞仍在 30% 以上。如胞浆内发现 Auer 小体, 更有助于排除 ALL 而确诊为 AML。

(三) 急性髓系白血病, M2 型 (AML, M2)

按我国修订标准分为 M2a 和 M2b 两种亚型。

M2 (acute myeloblastic leukemia with significant maturation) 急性原始粒细胞白血病明显成熟型

M2 骨髓中原粒细胞 (I 型+II 型) >30%, <90% (非红系细胞), 大多数为 II 型原始粒细胞, 原始及幼稚单核细胞不超过 20%, 大于 10% 的骨髓有核细胞是早幼粒细胞或更成熟阶段的细胞。易见含 Auer 小体 c40%~8026) 的 t(8; 21) 病例中 CD19 阳性, MPO、SBB 强阳性。

M2a 型: 骨髓中原粒细胞比例低于 M1 型, 占大于 30% 至小于 90% (NEC), 其中 II 型原始细胞百分率增高, 白血病细胞大小不一、形态多变, Auer 小体较 M1 型易见。早幼