

LINCHUANG
XUEYE
JIANYANXUE



临床血液检验学

■ 主 编 李笃军 刘 霄 徐秀红 李 杰

天津科学技术出版社

临床血液检验学

主 编 李笃军 刘 霄 徐秀红 李 杰

图书在版编目(CIP)数据

临床血液检验学/李笃军等主编. —天津:天津科学技术出版社, 2011. 7

ISBN 978-7-5308-6490-6

I. ①临… II. ①李… III. ①血液检查 IV. ①R446.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 152255 号

责任编辑:张 跃

责任印制:兰 毅

天津科学技术出版社出版

出版人:蔡 颢

天津市西康路 35 号 邮编 300051

电话 (022)23332399(编辑室) 23332393(发行部)

网址:www.tjkjcs.com.cn

新华书店经销

山东省英华印刷厂印刷

开本 787×1 092 1/16 印张 26.5 字数 640 000

2011 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

定价:88.00 元

编 委 会

主 编

李 笃 军 刘 霄

徐 秀 红 李 杰

副主编(按姓氏笔画排序)

王 信 强 曲 人 亮 朱 海 峰

纪 云 娥 初 爱 秋 唐 春 竹

编 委(按姓氏笔画排序)

王 信 强(龙口市人民医院)

刘 霄(烟台经济技术开发区医院)

曲 人 亮(烟台市传染病医院)

朱 海 峰(山东省血液中心)

纪 云 娥(烟台市心理康复医院)

初 爱 秋(烟台市福山区人民医院)

张 乐 研(解放军第 107 医院)

李 杰(烟台毓璜顶医院)

李 笃 军(烟台经济技术开发区医院)

陈 海 霞(烟台经济技术开发区医院)

赵 瑾(烟台市福山区人民医院)

唐 春 竹(莱阳市中医院)

唐 菁(烟台经济技术开发区医院)

徐 秀 红(烟台经济技术开发区医院)

主编简介



李笃军 男,1962 年出生,大学本科学历,副主任技师。现任烟台经济技术开发区医院检验科主任,滨州医学院兼职副教授,兼任烟台市医学会第六届检验专业委员会副主任委员,山东省医师协会检验分会委员,山东省抗癌协会细胞学分会委员。从事医学临床检验工作 30 年,曾在山东医科大学附属医院进修学习 1 年,积

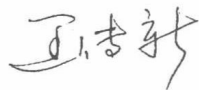
累了丰富的实践经验,擅长血液骨髓体液细胞形态学、血液病实验诊断、临床输血、微生物学、肿瘤免疫学、生物化学等检验与研究。在临床实验室标准化管理、质量控制和学科建设等方面具有较深的造诣。近几年发表国家级、省级专业学术论文 8 篇,主编专著 1 部,参编 3 部,获市级科技进步一等奖 1 项,现主持承担山东省科技发展计划项目科研课题 1 项。

序 言

医学检验(laboratory medicine)又称检验医学,是一门交叉学科。其任务是为疾病诊断、病情判断和治疗决策提供信息,为临床和科研提供实验方法和数据。同时伴随着循证医学模式的发展在当今的医疗活动中起着越来越重要的作用。

日常临床检验工作中,临床血液检验学是以血液学与检验学为主要研究对象的一门独立分支学科。在整个临床检验中占有很大的比重,也是日常检验工作中最为重要的组成部分。根据其研究内容和范畴又可细分为:血细胞形态学、血细胞生理学、血液生化学、血液免疫学、遗传血液学、血液流变学、实验血液学等。本书就是围绕上述这些内容并结合近年来基础学科、实验技术的发展和进步展开叙述。另外,本书还特别借鉴国内外最新理论和先进技术在内容上坚持“三基五性原则”,既“基本理论、基本知识、基本技能;思想性、科学性、先进性、启发性、适用性”。成为本书鲜明的一个特点。

作为特殊的知识载体和传播媒介,本书注重突出临床血液检验学的专业特点,认真收集和总结临床血液学检验中的先进理论和技术,重点突出、深入浅出、图文并茂,为检验工作者提供了一部重要的参考书和工具书,特予以推荐。



山东大学齐鲁医院

前 言

《临床血液检验学》是一门不可缺少的重要学科,它的任务是利用血细胞的检验技术、超微结构技术、病理学技术、生物化学技术、免疫学技术、遗传学技术、细胞生物学技术、分子生物学技术以及其他多种技术,对血液系统疾病和非血液系统疾病所致的血液学异常进行基础理论的研究和临床诊治的观察。

随着基础医学的发展和高新技术在检验医学中的应用,临床血液检验学无论在深度和广度方面均取得了令人瞩目的进展。为了适应医学科学技术发展的需要,适应新世纪教学和改革的需要特组织编写此书。本书主要供广大临床医师和检验人员作为工作用书参考,也可供全国高等医学院校临床医学类医学检验专业的学生作为参考教材使用。

本书共分为二十一章,主要包括血液检验学绪论、血液学与临床的关系、血液检验学概述、血液一般检查、骨髓细胞学检查、流式细胞术及在血液细胞学的应用、血栓和止血一般检查、肝功能检验、心胰功能检验、肾功能检验、血清电解质检验、血浆脂蛋白检验、糖类及其代谢产物检验、激素检验、补体系统检验、免疫球蛋白测定、肿瘤的血液学检查、自身抗体测定、传染病的免疫学检查、病毒核酸的 PCR 检验、细胞与分子细胞遗传学检测技术。

本书编者对编写内容经过了反复研究和讨论,并经山东省医学检验专业委员会主任委员、山东大学齐鲁医院检验中心主任王传新教授审阅,几经修改力争使本书内容丰富,知识性、实用性较强。虽经多方面努力,但由于编者知识水平有限,时间仓促,书中缺点和错误在所难免,敬请专家和读者批评指正,以便再版时更加完善。

《临床血液检验学》编委会

2011 年 6 月

第一章 血液检验学绪论	(1)
第一节 血液学发展史	(1)
第二节 血液学概述	(5)
第二章 血液学与临床的关系	(7)
第一节 血液学与检验的关系	(7)
第二节 血液学与疾病的关系	(8)
第三节 血液检验与循证医学的关系	(9)
第三章 血液检验学	(10)
第一节 血液标本的采集	(10)
第二节 真空采血系统	(14)
第三节 血液标本常用抗凝剂及其作用	(28)
第四节 血液标本运输和保存对检验结果的影响	(29)
第四章 血液一般检查	(31)
第一节 一般检验	(31)
第二节 贫血的检查	(38)
第五章 骨髓细胞学检查	(45)
第一节 骨髓细胞形态学	(45)
第二节 骨髓涂片细胞形态学检查的内容和方法	(55)
第三节 血细胞化学染色	(61)
第四节 常见血液病细胞形态学检验	(67)
第六章 流式细胞术在血液病诊断中的应用	(88)
第一节 流式细胞仪简介	(88)
第二节 流式细胞术在血液病诊断中的应用	(90)
第七章 血栓和止血的一般检查	(95)
第一节 止血、凝血和纤溶机制	(95)
第二节 血管内皮细胞的检验	(102)
第三节 血小板检验	(106)
第四节 凝血因子的检测	(114)
第五节 抗凝物质测定	(116)
第六节 纤溶活性测定	(118)

第七节 血液流变学检验	(120)
第八章 肝功能检验	(124)
第一节 概 述	(124)
第二节 肝脏分泌与排泄功能检测	(127)
第三节 肝脏代谢性功能试验	(133)
第四节 肝脏实质病变酶学	(141)
第五节 胆汁淤积为主酶学	(153)
第六节 肝脏纤维化为主酶学	(164)
第七节 血浆氨测定	(167)
第九章 心胰功能检验	(170)
第十章 肾功能检验	(176)
第一节 血清尿素(Urea)测定	(176)
第二节 血清肌酐(SCr)测定	(179)
第三节 血清尿酸(SUA)测定	(182)
第四节 血清 β_2 -微球蛋白测定	(184)
第五节 肾小球滤过功能试验	(186)
第六节 血胱抑素 C(Cys-C)测定	(189)
第七节 氨甲酰血红蛋白(CarHb)测定	(189)
第八节 中分子物质测定	(190)
第九节 肾血流量测定	(190)
第十节 肾小管重吸收功能检查	(191)
第十一节 肾小管排泌功能试验	(192)
第十一章 血清电解质检验	(193)
第一节 概 述	(193)
第二节 血清钾、钠检验	(196)
第三节 血清氯的测定	(204)
第四节 血清钙测定	(207)
第五节 血清磷测定	(210)
第六节 血清镁检验	(215)
第七节 血清锌测定	(219)
第八节 二氧化碳测定	(223)
第十二章 血浆脂蛋白检验	(227)
第一节 概 述	(227)
第二节 总胆固醇(TC)测定	(230)
第三节 甘油三酯(TG)测定	(233)
第四节 磷脂(PL)测定	(237)
第五节 游离脂肪酸(FFA)测定	(237)
第六节 过氧化脂质(LPO)测定	(237)

第七节	高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定	(238)
第八节	低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定	(240)
第九节	载脂蛋白 A I (ApoA I)和 B(ApoB)测定	(241)
第十节	脂蛋白 a[Lp(a)]测定	(244)
第十一节	血浆脂蛋白测定	(245)
第十二节	血浆脂代谢相关蛋白与酶的测定	(246)
第十三节	脂质代谢紊乱相关基因突变分析	(247)
第十三章	糖类及其代谢产物检验	(249)
第一节	概 述	(249)
第二节	葡萄糖测定	(251)
第三节	葡萄糖耐量试验	(256)
第四节	糖化血红蛋白检验	(259)
第五节	糖化血清蛋白检验	(264)
第六节	血清胰岛素和胰岛素释放试验	(265)
第七节	血清 C-肽释放试验	(267)
第八节	血清胰岛素原测定	(269)
第九节	抗谷氨酸脱羧酶(GAD)抗体测定	(270)
第十节	抗胰岛细胞抗体(ICA)测定	(270)
第十一节	胰岛素自身抗体(IAA)测定	(271)
第十二节	乳酸检验	(271)
第十三节	丙酮酸检验	(275)
第十四节	血清 β -羟丁酸检验	(278)
第十四章	激素检验	(281)
第一节	下丘脑-垂体内分泌	(281)
第二节	甲状腺功能检测	(285)
第三节	肾上腺激素检测	(298)
第四节	性激素代谢检测	(303)
第十五章	补体系统	(321)
第一节	概 述	(321)
第二节	补体的激活	(322)
第三节	血清补体总活性测定(CH ₅₀ 试验)	(324)
第四节	单个补体成分的测定	(327)
第五节	补体结合试验	(327)
第六节	C _{1q} 含量测定	(330)
第七节	补体 C ₃ 含量测定	(330)
第八节	补体 C ₄ 含量测定	(331)
第九节	B 因子(factor B,Bf)含量测定	(331)
第十节	补体 C ₃ 裂解产物测定	(331)

第十一节	C ₃ 肾炎因子(Bephrtic factor,C ₃ NeF)检测	(333)
第十二节	补体溶解免疫复合物(IC)活性及抑制 IC 沉淀的活性检测	(333)
第十三节	补体的生物学功能	(334)
第十四节	补体系统与疾病	(336)
第十五节	补体测定的应用	(337)
第十六章	免疫球蛋白测定	(338)
第一节	IgG、IgA、IgM 测定	(338)
第二节	IgD 测定	(339)
第三节	IgE 测定	(340)
第四节	M 蛋白测定	(341)
第五节	游离轻链测定	(342)
第六节	冷球蛋白测定	(343)
第十七章	肿瘤的血液学检验	(344)
第一节	甲胎蛋白(AFP)	(344)
第二节	癌胚抗原(CEA)	(345)
第三节	糖类抗原 19-9(CA19-9)	(346)
第四节	糖类抗原 125(CA125)	(347)
第五节	糖类抗原 153(CA153)	(348)
第六节	糖类抗原 242(CA242)	(348)
第七节	糖类抗原 724(CA724)	(349)
第八节	糖类抗原 50(CA50)	(350)
第九节	前列腺特异抗原(PSA)	(351)
第十节	鳞癌相关抗原(SCC)	(353)
第十一节	细胞角蛋白 19 片段 CYFRA21-1	(354)
第十二节	神经元特异性烯醇化酶(NSE)	(355)
第十三节	人绒毛膜促性腺激素 HCG	(356)
第十四节	抗人乳头瘤病毒抗体	(357)
第十五节	抗 E-B 病毒抗体	(357)
第十六节	肿瘤特异性生长因子	(358)
第十七节	AFU	(359)
第十八节	降钙素 CT	(359)
第十九节	胰胚胎抗原(POA)	(360)
第二十节	胃泌素前体释放肽(PROGRP)	(361)
第二十一节	肿瘤细胞周期与 DNA 倍体分析	(362)
第二十二节	肿瘤基因及其表达产物检测	(363)
第十八章	自身抗体测定	(366)
第一节	类风湿因子(RF)测定	(366)
第二节	抗核抗体(ANA)测定	(367)

第三节	抗双链 DNA(dsDNA)抗体测定	(368)
第四节	抗 ENA 抗体测定	(369)
第五节	抗线粒体抗体测定	(369)
第六节	抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)测定	(370)
第七节	抗乙酰胆碱受体抗体(AchR-Ab)测定	(370)
第八节	抗核小体抗体(AnuA)测定	(371)
第九节	抗心磷脂抗体(ACA)与抗 β_2 -GP ₁ 抗体测定	(372)
第十节	抗核周因子(APF)与抗角蛋白抗体(AKA)测定	(372)
第十一节	抗环胬氨酸肽抗体(CCP)测定	(373)
第十九章	传染病的免疫学检查	(374)
第一节	病毒性肝炎的血清学检测	(374)
第二节	优生四项(ELISA)试验	(384)
第三节	抗人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体检测	(388)
第四节	梅毒的血清学检测	(390)
第五节	肺炎支原体感染的血清学检测	(393)
第二十章	PCR 检验	(395)
第二十一章	细胞与分子细胞遗传学检测技术	(407)
第一节	概 述	(407)
第二节	染色体标本的制备和显带技术	(409)
第三节	人类染色体识别与核型分析	(415)
第四节	分子细胞遗传学检测技术	(425)
第五节	分子细胞遗传学研究技术	(431)
参考文献		(436)

第一章 血液检验学绪论

第一节 血液学发展史

祖国医学早在《黄帝内经》一书中即有关于血液的记载,国外在公元前 3~4 世纪时已有人提到血液的名字。然而对于血液组成和功能的认识长期以来是唯心的和不完全的,有些概念是从点滴的现象和不完整的观察中推测出来的。系统地 and 科学地研究血液开始于显微镜的问世以后,用显微镜观察血液中的红细胞(1673 年)、白细胞(1749 年)和血小板(1842 年),称为血液的有形部分,也是血液学家研究的重点对象。血液中的液体部分,亦称为血液无形成分(或血浆),许多年来由生物化学家和免疫学家所研究,目前血液学家对血浆特别关心的问题是止血和血栓的基础和临床意义。自 20 世纪初开始,血细胞生成、造血干细胞及造血调控方面也是血液学研究的热点领域。

一、血细胞的认识

血细胞的发现虽已有 150~300 年的历史,但这些细胞的形态学至今还是血液学家研究的重要部分。随着观察血细胞的技术不断改进,光学显微镜的精密度不断提高,染色技术使细胞形态更清晰易于鉴别,得以区分出各类白细胞且观察到各种血细胞的异常形态;特殊显微镜的发明使血细胞形态学概念更加充实。目前应用的特殊显微镜有:暗视野显微镜、位相显微镜、偏光显微镜、干涉显微镜、激光共聚焦显微镜以及电子显微镜等。19 世纪 60 年代后开始了解到血细胞产生于骨髓,骨髓中有幼稚血细胞,这些幼稚细胞成熟后才进入外周血液。1929 年发明了骨髓穿刺针,骨髓可像血液一样被吸取和推成薄膜片,在油镜下观察。从此骨髓细胞观察成为血细胞形态学研究的一个重要内容。类似技术也应用于淋巴组织内的血细胞形态观察。

(一)血细胞数量的检测

有赖于血细胞吸管(1852 年-1867 年)、血细胞计数板(1855 年)、血红蛋白计(1878 年-1895 年)和细胞分类技术(1877 年-1912 年)的发明。1953 年,美国 Coulter 发明世界上第一台血细胞自动计数器,随着基础医学的发展、高科学技术的应用,特别是计算机技术的应用,血液分析仪的研制水平不断提高,检测原理不断完善,测量参数逐渐增多,检测速度快、精确度高、操作简便血液分析仪的优势,多种型号血液分析仪的问世,不断为临床提供更有用的实验指标,对疾病的诊断与治疗有重要的临床意义。

(二)红细胞的认识

对红细胞功能的认识,最先开始于 1871 年-1876 年,已知红细胞有带氧功能且能在组织中参与呼吸作用,1900 年-1930 年对此有更全面的了解。1935 年得知红细胞内有碳酸酐酶,能将大量二氧化碳转变成碳酸根离子,使之溶解于血液中;同时也能将碳酸根离子转化成二氧化碳,

在肺泡中释放。这一发现不仅明确了红细胞的呼吸作用,而且了解到红细胞和血液酸碱平衡有密切关系。1967年以后明确红细胞内2,3-二磷酸甘油醛可作用于脱氧的血红蛋白分子,有利于组织获得更多的氧。1946年,确定红细胞寿命在120天左右。人体输血能较安全地开展,是在1901年发现红细胞ABO血型之后。在20世纪20年代已知红细胞在体外保存需要葡萄糖,30年代已应用体外保存的血液作输血之用,40年代血库才开始逐渐建立。对红细胞糖代谢的全面了解是在1959年后。近40年来,红细胞结构与脂肪、蛋白的关系已较明确。

(三) 白细胞的认识

1. 对粒细胞的認識

1892年-1930年已知中性粒细胞有趋化、吞噬和杀灭细菌的作用,到1986年后才知道杀灭细菌的作用依赖于细胞内存在的过氧化物酶,使自身体内的 H_2O_2 起氧化作用之故。嗜酸性粒细胞的功能虽然至今还不十分清楚,但早在1949年就知道嗜酸颗粒会转变成夏科-莱登结晶。近年来得知嗜酸性粒细胞内有阳离子蛋白,具有杀死微小生物的作用。对嗜碱性粒细胞功能也有一定了解。嗜碱颗粒中有多种化学成分,如组胺、5-羟色胺等都是一些参与过敏反应的物质。

2. 对单核细胞的认识

单核细胞的吞噬功能在1910年后才有报道,此类细胞不但能吞噬一般细菌,而且能吞噬较难杀灭的特殊细菌(如结核杆菌、麻风杆菌),也能吞噬较大的真菌和单细胞寄生虫。故当时有人称之为“打扫战场的清道夫”。20世纪60年代后发现,单核细胞杀死和消化吞噬的物质,主要依靠单核细胞内存在大量的溶酶体。近年来更了解到单核细胞在免疫作用中也起了很大作用,能将外来物质消化后递呈抗原给淋巴细胞,同时又可分泌多种细胞因子调节淋巴细胞以及其他血细胞生长、增殖或受抑。1924年Aschoff曾提出所谓“网状内皮系统”(RES)这一名称,1976年后已被否定取而代之的是单核细胞有关的“单核吞噬细胞系统”(MPS)。现已知单核细胞只是该系统中一个较短暂留在血液内的细胞,以后进入各种组织转变成组织细胞。组织细胞内如有吞噬物质,则称为吞噬细胞。

3. 对淋巴细胞和浆细胞的认识

对淋巴细胞功能的认识主要在最近30年。过去认为淋巴细胞是淋巴系统中最末的一代,已经成熟到不能再分化,而且对它的作用也很不了解。1959年以来发现,淋巴细胞受到丝裂原和抗原刺激后又转化为免疫母细胞,并能再进行有丝分裂和增殖。近年来更明确,淋巴细胞虽然形态都相似,但在功能上却显著不同:B细胞产生抗体;T细胞中有的起杀伤作用,有的起辅助作用,有的起抑制作用,有的起诱导作用等。其实各类淋巴细胞还有更细的分工:一个淋巴细胞只对1~2种抗原起反应,抗原有千千万万,可想象淋巴细胞分工的复杂性。至于浆细胞是B淋巴细胞受到抗原刺激后转化出来的一种能分泌免疫球蛋白的细胞,这已在20世纪60年代肯定。T细胞还能产生多种细胞因子。

二、血栓与止血的认识

1842年发现血小板,直至1882年才知它有止血功能和修补血管壁的功能,1923年知道血小板有聚集功能和黏附功能。它的作用机制和超微结构在近40年逐渐了解,现已知聚集和黏附功能受到体内许多物质的影响,例如肾上腺素、凝血酶、胶原、前列腺素等;而其中有些物质却又能在血小板内生成并通过微管分泌至血小板外,然后又作用于血小板。血小板超微结构的研究进展明确了血小板内各种亚结构,并且也明确了这些亚结构与上述一些物质的产生和分泌有关。随着使用激光共聚焦显微镜进行单个血小板断层扫描分析单个血小板激活过程中 Ca^{2+} 浓度、应

用流式细胞仪观察群体血小板 Ca^{2+} 流变化,证实血小板激活过程中,血小板外钙内流起重要作用,为临床工作中血栓性疾病的诊断及抗血小板药物的研究建立了重要的方法学基础。近年来还发现血小板被激活后,能以出芽方式形成囊泡或以伪足断裂方式形成血小板颗粒(PMP)。检测血循环中的 PMP 可较完整地反映血小板参与血栓形成和血液凝固的功能。血小板被激活后释放 P-选择素可与白细胞和(或)单核细胞膜上受体结合形成血小板-白细胞聚集物和(或)血小板-单核细胞聚集物,可作为反映动脉血栓形成的特异性标志物之一。对止血与血栓的认识开始于出血问题上。例如血友病早在 2000 年以前犹太人法典中已有记载。20 世纪 50 年代以后,对凝血机制有了深入的认识,到了 20 世纪 60 年代,“瀑布学说”已成为公认的凝血机制。20 世纪 60 年代末,随着各种先天性凝血因子缺乏症或功能异常症的发现,明确了参与止血反应中的各种成分。进入 20 世纪 70 年代,随着生物化学技术的进步,加速了对各种因子的结构与功能的了解,并发现了一些新的凝血及纤溶相关因子,如 α_2 纤溶酶抑制物以及蛋白 C 等。20 世纪 80 年代,展开了对纤维连接蛋白等黏附分子的研究,并且对血管内皮细胞、血液凝固、纤溶系统、血小板、白细胞以及其他凝血抑制物等细胞分子进行克隆,逐步阐明止血与血栓的分子机制。20 世纪 90 年代至今由于对组织因子途径抑制物、抗凝血酶、血栓与止血分子标志物等功能及作用机制研究的深入,完善并修整了传统的瀑布学说,拓宽了血栓与止血的研究领域。

对于凝血、纤溶、内皮细胞和血小板等在血栓形成中的作用也从分子水平上有了深入的认识。随着分子生物学、分子免疫学等学科的发展,在血栓和止血方面已发展和建立了一系列的方法用于实验诊断出血性疾病和对血栓性疾病危险因素的检测以及抗凝溶栓治疗的监测。并且分子标志物检测,已成为研究和诊断血栓前状态和易栓症的重要方法和依据。

三、骨髓干细胞与造血调控的认识

(一)造血干细胞的认识

干细胞的概念源于 1896 年细胞生物学家 Wilson 的经典著作《The Cell in Development and Inheritance》,在他书中即用干细胞这一术语描述线虫生殖系的祖细胞。胚胎干细胞作为第一层次干细胞的假设一直到 1981 年 Evans 和 Martin 的研究工作等证实,他们首次从小鼠囊胚的内细胞团中分离出胚胎干细胞(ES),并成功地用于体外培养。造血干细胞是由胚胎干细胞发育而来,在造血微环境及造血因子等诱导下,增殖、分化、发育成熟为各系血细胞,释放至外周血液执行其生物学功能。

造血与造血的调控是生命活动的重要部分,造血系统持续不断生成新的血细胞以替换那些衰老退变的细胞,以维持体内恒定的血细胞数量,从而保证生命活动中机体对各类血细胞的需要。多年来,关于血细胞起源问题单元论及多元论争论不休。20 世纪初,提出造血干细胞(HSC)的概念,当时对这种细胞认识不甚清楚,也没有更多的实验证据说明,直至 1961 年 Till 等用致死量放射线照射实验小鼠,然后进行骨髓移植,成功地在脾脏形成结节,发现了造血干细胞,即这类形成脾结节的原始细胞,后采用天然性染色体及性别决定基因作为细胞遗传的标志,结合造血干细胞研究中的单个脾集落转移技术,研究结果表明脾集落生成细胞是一类多能造血干细胞。二次世界大战末,在日本的两颗原子弹的爆炸导致了数以万计的重度急性辐射损伤的患者,此后许多科学家们开展了急性辐射损伤和放射生物学的研究,研究发现输注正常骨髓细胞可以修复重度以上的急性放射病的造血损伤,但是,除了孪生同胞供者外,异体骨髓移植屡屡失败。1958 年, Dausset 发现了人类白细胞抗原(HLA),从此开始用 HLA 相合的同胞供者的骨髓进行了异基因移植治疗白血病,出现了 10 年以上无复发的治疗白血病的奇迹。此后进一步深入

研究,在实验血液学研究史上写了光辉的一页。1979年,体外培养人造血祖细胞成功,对造血干细胞、祖细胞有了崭新的认识。Thomas首次成功地在不同个体之间移植了骨髓,可以治疗地中海贫血之类的遗传性疾病、白血病和再生障碍性贫血等严重的疾病,1990年,他以骨髓干细胞移植治疗恶性疾病的巨大成果获得诺贝尔生理学医学奖,推动了干细胞的研究。1984年,Civin首先发现分析鉴定HSC的方法,提出表达CD₃₄抗原的细胞就是移植后重建造血的HSC。接着,许多CD单克隆抗体的出现,流式细胞技术的应运而生,同时G-CSF分子克隆获得成功,使细胞因子基因重组技术切入了HSC的研究,于是HSC的分离、鉴定、扩增和移植等基础和临床应用研究得到了迅速的发展。可以认为,造血干细胞分化为各系祖细胞,进一步分化、成熟为各系成熟细胞。造血干细胞具有高度自我更新(自我复制)及多向分化这两个最基本的特征,是机体赖以维持正常造血的主要原因。

由于造血干细胞、造血祖细胞检测技术的进展,使血液学研究深入到对造血和血液病发病机制的探索。为了进一步研究造血干细胞的分化性能,采用了天然的细胞标志纯化造血干细胞和发展体外造血干细胞培养技术,同时为应用造血干细胞移植治疗白血病、再生障碍性贫血等打开了新局面。有意思的是,近年有许多文献报道造血干细胞的可塑性,HSC在特定环境中经诱导后可转化为其他组织细胞如肝细胞样细胞,这极大地激发了人们对干细胞横向分化或转分化问题的研究兴趣。

(二)骨髓间质干细胞的认识

在骨髓中除了HSC外,至少还存在另外一种干细胞即间质干细胞(MSC)也称之为间充质干细胞,MSC是一群中胚层来源的具有自我更新和多向分化潜能的多能干细胞。MSC作为成体干细胞中的一员,主要存在于骨髓基质中,它们不同于骨髓造血干细胞,属于非造血组织的间质干细胞。1966年由Friedenstein等首先提出MSC的概念。研究证明,骨髓MSC是一种具有多向分化增殖潜能的原始细胞,可分化成为多种组织,包括骨、软骨、脂肪、肌肉等。此外,骨髓MSC在骨髓造血中起着重要的支持作用,所以也有人称之为骨髓基质细胞。因为其比较容易贴壁和形成纤维样克隆,也称之为成纤维细胞集落形成单位(CFU-F)。虽然骨髓MSC在骨髓中含量极少,仅占骨髓有核细胞的0.001%~0.01%,但具有易分离纯化、体外扩增迅速、可长期传代及体外操作简单等特性,而且在不同的诱导环境下能分化成多种组织细胞,因此,MSC在再生医学和组织工程中具有极为重要的价值,受到人们极大的关注。2000年后,国内开始骨髓MSC的研究工作,研究了人MSC分离及生物学特性,证明MSC在一定传代时间内具有生长稳定、增殖较快等特点,在不同的条件下可定向分化为多种组织细胞,能为临床应用MSC治疗相应的组织损伤提供干细胞来源。MSC和HSC一样都存在成体干细胞的可塑性,这些研究将推动MSC的基础和临床应用。

(三)造血调控的认识

血细胞生成是造血干细胞经历连续增殖与分化的结果。机体根据需要,有条不紊地调控造血干细胞的增殖与分化,保持各类细胞数量的相对恒定。在这个复杂的细胞活动中,造血细胞与间质细胞之间通过受体与配体的相互接触,以及细胞因子与造血细胞受体之间相互作用,并通过不同的信号转导通路启动或关闭一系列的基因而实现对造血细胞增殖、分化与凋亡的调控。近年来,在生理性及病理性造血调控研究方面取得明显进展,对血细胞的发生从分子水平上有了进一步的了解。造血调控研究的是造血的基础,它对于阐明造血机制以及造血系统疾病的诊断、治疗和病因分析等都有重要作用。细胞因子及其受体的互相作用与信号转导是造血调控研究的另

一个热点领域。对各系血细胞的调节因子如 SCF、G-CSF、GM-CSF、EPO、TPO、IL 等的理化性质、氨基酸序列、作用特点均已有较为详细的了解,细胞因子与受体的纯化、克隆、功能研究等不断地有新的进展。造血微环境中同时存在着造血细胞和间质细胞。它们之间的相互作用构成了造血调控的重要内容。造血微环境主要包括基质细胞、细胞外基质分子(ECM)、细胞黏附分子(CAM)及各种正负调控因子等,造血微环境对于造血干细胞的增殖与自我更新,造血细胞的迁移与定位,各系祖细胞的发育、分化与成熟等均具有十分重要的调控作用。各种 Integrins、Ig 超家族分子、Selectins 等 CAM 间的互相识别,各种蛋白多糖如 SHPG、GS、HC 等对细胞因子的富集作用,各型胶原、糖蛋白(如 Fn、TSP 等)与造血细胞的定位、分化、成熟、释放等方面的研究也都取得了明显的进展。1973 年 Dexter 等建立了造血细胞体外长期培养体系,为体外模拟造血迈出了一大步。由骨髓细胞构造的贴壁细胞层对造血干细胞增殖与分化的调控是通过造血微环境细胞分泌的细胞因子实现的。近年来骨髓间质干细胞对造血的调控作用也是国内外专家们研究的热点之一。

造血调控的研究一方面为认识生命科学的许多基本问题提供了重要的研究模型和理论;另一方面在血液系统疾病、恶性肿瘤、遗传性疾病等的发病机制、诊断、治疗和预后判断中均具有十分重要的意义。

第二节 血液学概述

血液学是以血液和造血组织为主要研究对象的医学科学的一个独立分支学科。根据研究内容和范畴的不同又可细分为多门分支学科,如:①血细胞形态学,研究对象为血液中有形成分形态;②血细胞生理学,研究对象为细胞来源、增殖、分化和功能;③血液生化学,研究对象为血细胞组成、结构、代谢和血浆成分;④血液免疫学,研究对象为血细胞免疫和体液免疫;⑤遗传血液学,研究对象为血液病遗传方式和信息传递;⑥血液流变学,研究对象为血液流动性和血细胞变形性;⑦实验血液学,研究对象为实验技术和建立实验方法等。近年来,随着基础学科的飞速发展,实验技术的日新月异,促使血液学的研究内容和范畴不断地深入和扩大,开拓了许多新的领域,如血细胞生物学和血液分子生物学等。血液学已成为生理和病理多种专业工作者共同耕耘的园地,血液学范围不断扩大,血液学在医学整体中已成为分子细胞生物学的前驱。生理学家、生物化学家、免疫学家、遗传学家、肿瘤学家等与临床血液学家密切合作,使临床血液学的预防、诊断和治疗水平不断提高,同时,临床血液学又为多门基础学科解决了不少问题,并开阔了新的领域。

临床血液学是以来源于血液和造血组织的原发性血液病以及非血液病所致的继发性血液病为主要研究对象,基础理论与临床实践紧密结合的一门综合性临床学科。临床血液学重点研究各种血液疾病(如白血病、再生障碍性贫血、血友病、深静脉血栓形成等)的致病原因、发病机制、临床表现和诊治措施等。此外,也研究临床其他各科疾病(如肝脏病、肾脏病、冠心病、糖尿病、脑血管病、呼吸病、传染病、免疫病、产科病、恶性肿瘤、遗传病等以及外科手术、严重创伤、药物治疗等)所引起的血液学异常。

近年来,随着医学院校检验专业的崛起和发展,又形成临床血液学与检验这一分支。实际上,它是以血液学的理论为基础,以检验学的实验方法为手段,以临床血液病为工作对象,创建了一个理论-检验-疾病相互结合、紧密联系的新体系,且在实践过程中不断发展、完善和提高。尤