

Cytogenetic Atlas of
Hematologic Malignancy

恶性血液病 细胞遗传学图谱

► 编 著 / 毛 翠 应 逸



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

恶性血液病 细胞遗传学图谱

Cytogenetic Atlas of
Hematologic Malignancy

编 著 毛 翠 应 逸
主 审 陈 忠 毛 平



人民军医出版社
PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目 (CIP) 数据

恶性血液病细胞遗传学图谱 / 毛翠, 应逸编著. — 北京: 人民军医出版社, 2015.4

ISBN 978-7-5091-8297-0

I. ①恶… II. ①毛… ②应… III. ①白血病—细胞遗传学—图谱 IV. ①R733.7—64

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 052592 号

策划编辑: 王灵芳

文字编辑: 侯永微

责任审读: 黄栩兵

出版发行: 人民军医出版社

经 销: 新华书店

通信地址: 北京市 100036 信箱 188 分箱

邮 编: 100036

质量反馈电话: (010) 51927290; (010) 51927283

邮购电话: (010) 51927252

策划编辑电话: (010) 51927300-8751

网址: www.pmmp.com.cn

印刷: 三河市潮河印业有限公司 装订: 胜宏达印装有限公司

开本: 787 mm × 1092 mm 1/16

印张: 14.5 字数: 198 千字

版、印次: 2015 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

印数: 0001—3500

定价: 78.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书, 凡有缺、倒、脱页者, 本社负责调换

内容提要

编者从大量病例中精选了 150 余幅具有代表性的染色体异常 G 显带图片,基本涵盖了血液系统恶性肿瘤各种典型的异常核型,并结合文献资料,对各种常见异常的诊断和预后意义进行了说明;介绍了如何做好染色体制备和核型分析的技术及经验。本书图片带型清晰,说明细致全面,不仅适用于从事细胞遗传学检测的专业技术人员和血液内科临床医师,而且为临床医学院校师生学习和了解恶性血液病的细胞遗传学知识提供了参考。

序

自 21 世纪初,形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学(MICM)综合运用于血液系统疾病的诊断分型以来,这些技术已成为广大血液病工作者不可或缺的基础方法和研究手段。它们不仅对血液系统疾病极具诊断价值,而且对急性白血病等恶性血液病的危险度分层、预后判断、治疗指导及新药研发具有重要的指导作用,尤其是细胞遗传学的作用至关重要,且越来越为人们所重视。

本书两位著者均为国内从事血液病细胞遗传学工作的中青年专家,具有血液细胞遗传学方面良好的学习与培训背景,在多年的实际工作中收集了丰富的资料,有较深刻的认识。两位对此项工作十分热忱并极具责任心,欲将自己工作中之所获及经验与同道分享、交流,以达共同进步。

本书含血液病细胞遗传学图 150 余幅,分别从图片内容延伸至临床相关疾病,并紧密联系临床,结合国内外有关知识与经验,做了深入浅出的诠释与说明,图片全部取自他们工作的积累并结合具体疾病的诊断过程对每一幅图片做了透彻的分析和精辟的说明。本书几乎涵盖了所有血液病细胞遗传学与临床有关内容,部分病例还结合原位荧光杂交、细胞免疫表型、分子生物学进行了综合分析,如 AML-M3,除典型的 $t(15;17)$ 外,还有 $t(5;17)$ 和 $t(11;17)$ 的图谱与分析;又如 MLL 基因,全面深入地展示了 $t(1;11)$ 、 $t(4;11)$ 、 $t(6;11)$ 、 $t(9;11)$ 等,并分别详述其意义。同时,还介绍了如何获得高质量清晰染色体图像的技术与经验。

本书内容源自编者亲历经手的广泛而丰富的资料信息,得益于长期临床知识与实验室工作的深厚功底和经验积累,特别难能可贵的是编者愿充当血液病细胞遗传学实验工作与广大临床医师间的桥梁,并回答临床医师许多亟待解决的相关问题。在此,我们真诚地希望编者不断扩展思路,提升工作品质,丰厚研究成果,从优秀走向卓越,使本书更加完善和更具指导性。

毛 平 陈 忠

前言

在 20 世纪 60 年代早期,细胞遗传学分析除了根据染色体数目外,只能根据其大小和着丝粒的位置进行粗略的判别。70 年代随着显带技术的进步,通过化学或酶处理的方法可使染色体沿着长短臂呈现明暗相间的条带分布,从而使 46 条染色体均能被准确识别,并利用显带技术发现 t(9;22) 是 CML 特征性的染色体易位的开始。从此,血液系统恶性肿瘤的细胞遗传学研究获得了巨大发展,许多与疾病相关的融合基因被定位、克隆,以伊马替尼(格列卫)为代表的靶向治疗药物研发成功标志着恶性血液病靶向治疗时代的到来。目前,成年人 AML 的染色体异常检出率在 55% 以上,儿童 ALL 核型异常高达 85%。许多染色体异常具有一定的重现性,其类型不仅在 AML 与 ALL 之间有明显区别,而且在它们各自的亚型间也各不相同。初诊时的染色体核型与患者的 CR 率、CR 持续时间,以及总生存期的长短密切相关,成为独立的预后判断指标,并能指导个体化治疗方案的选择。另外,新的染色体异常被发现,为从分子水平研究白血病的发病机制、基因改变、探索新的治疗靶点和治疗手段提供了重要线索。随着 WHO 血液系统恶性肿瘤诊断分型标准的不断修订完善,染色体核型与细胞形态学、免疫分型及分子遗传学已成为白血病 MICM 分型不可或缺的组成部分,并在白血病的诊断和预后判断中发挥着越来越重要的作用。

国内各大型血液病中心认识到染色体核型分析在血液系统恶性肿瘤诊治中的重要作用,已经或准备开展这一工作的医院也越来越多。另外,第三方临床检验机构的发展也极为迅速,国内从事染色体核型分析的专业技术人员数量正在快速增长。但这是一项对检验人员要求极高的工作,无论染色体的制备还是染色体核型的分析,均要求操作者有相当长的培训时间和丰富的工作经验。在学习过程中,初学者需要认识常见的各种异常;而在日常工作中,核型异常的复杂性和多样性也要求分析人员需要高质量的染色体异常图谱,以备时时查找和比对。目前,国内这方面的专业书籍尚少,除了 2003 年江苏省血液研究所薛永权教授编著的《白血病细胞遗传学及图谱》一书外,再无其他相关图谱出版。鉴于此,我们总结了近年来分析的大量病例,精选了 150 余幅具有代表性的染色体异常的 G 显带图片,基本涵盖了血液系统恶性肿瘤各种典型的核型异常,并结合文献资料,

指出了这些典型异常的诊断价值和预后判断的意义。另外，还介绍了如何做好染色体制备和核型分析的技术与经验。希望能为广大专业技术人员、血液内科临床医师，以及研究生学习和了解恶性血液病细胞遗传学提供一本有价值的参考书。

在本书的编写过程中，首先要感谢陈忠教授和毛平教授的严谨审阅和亲切指导。另外，还要感谢广州市第一人民医院血液内科王顺清主任对本书编写的大力支持以及实验室杜庆华副主任技师、陈小燕技师一直以来的辛勤工作；感谢康圣环球（北京）医学技术有限公司北京海思特临床检验所王绪华主任、梁超主任对编写工作的大力支持；感谢遗传平台、流式平台及分子平台全体实验室人员长期以来的密切配合；感谢第三军医大学附属西南医院杨在林老师提供典型病例，感谢郑州大学附属洛阳中心医院冯琦老师对本书图片的编辑。另外，染色体核型的图形采集和后期处理得到了蔡司公司和 Metasystem 公司的积极协助，在此表示衷心感谢！

血液系统恶性肿瘤的细胞遗传学内容博大精深，书中难免有疏漏和错误之处，衷心希望得到广大同道和专家学者的批评指正。

编 者

2015 年 1 月

1

第一章 骨髓染色体核型的制备与分析 1

- 一、临床意义 1
- 二、标本来源 2
- 三、染色体制备 2
- 四、制备注意事项 4
- 五、染色体核型分析 6
- 附 录 9

2

第二章 急性髓细胞白血病 11

- 一、特征性染色体重排 12
- 二、非特征性染色体重排 15
- 三、与 FAB 亚型无关的染色体异常 16
- 四、治疗相关性 AML 和 MDS 的细胞遗传学改变 18
- 五、典型病例核型分析 19

3

第三章 慢性粒细胞白血病 89

- 典型病例核型分析 92

4

第四章 慢性骨髓增殖性肿瘤 127

- 一、真性红细胞增多症 (PV) 127
- 二、原发性血小板增多症 (ET) 128

三、原发性骨髓纤维化 (PMF)	128
四、慢性中性粒细胞白血病 (CNL)	129
五、慢性嗜酸性粒细胞白血病 (CEL) 及其他与嗜酸性粒细胞增多相关的 MPN	129
六、骨髓增生异常综合征 / 骨髓增殖性重叠综合征 (MDS/MPD)	130
七、典型病例核型分析	131

5

第五章 骨髓增生异常综合征 142

一、骨髓增生异常综合征 (MDS) 常见的染色体异常	144
二、典型病例核型分析	146

6

第六章 急性前体淋巴细胞白血病 164

一、染色体数量异常	165
二、染色体特征性结构异常	167
三、非特征性结构异常	171
四、典型病例核型分析	174

7

第七章 淋巴系统恶性肿瘤 200

一、淋巴瘤	201
二、慢性淋巴细胞白血病 (CLL)	204
三、多发性骨髓瘤	205
四、典型病例核型分析	207

第一章

骨髓染色体核型的制备与分析

一、临床意义

1. 特异性染色体重排的发现不但有助于 AML 和 ALL 的鉴别，而且有助于进一步进行亚型鉴别及治疗方案的选择。

2. MDS 的诊断和预后判断：MDS 的诊断须排除其他疾病引起的血细胞减少。骨髓细胞形态学以及组织病理学对“骨髓病态造血”的判定受人为因素影响较大，临床上对于 MDS 的诊断存在很大的主观性，误诊率高。细胞遗传学检测能发现 MDS 患者骨髓细胞的克隆性改变，可成为诊断的客观依据，从而排除了骨髓形态学检查的主观因素影响，在 2008 年 WHO 分型标准中已将骨髓细胞染色体异常作为 MDS 诊断、分型不可缺少的依据之一。MDS 国际预后积分系统 (international prognostic scoring system, IPSS) 将初诊的染色体异常核型列入影响预后的主要因素，而在 WHO 预后积分系统 (WPSS) 中染色体异常对预后影响的权重进一步被强化。

3. 染色体异常可作为监测急性白血病缓解、复发以及疾病进展的重要指标：急性白血病最初的核型异常经治疗后完全消失而代之以正常核型，提示完全缓解 (CR)。CR 后原有异常重新出现，提示白血病复发。除原有异常外，又增添了新的异常，提示发生了克隆性核型演变，通常意味着疾病进展。

4. 白血病的预后判断：初诊的染色体核型与患者的 CR 率、CR 持续时间和总生存期的长短密切相关，是独立的预后指标。

5. 移植后的植入鉴定：性染色体标志可用于异性异基因造血干细胞移植后的植入鉴定。

6. 新的染色体异常的发现，为从分子水平研究白血病的发病机制、探索新的治疗手段和治疗靶点提供线索。

二、标本来源

根据肿瘤染色体研究的标本必须取自肿瘤本身的原则，白血病的染色体核型分析通常采用骨髓细胞，但慢性淋巴细胞白血病（CLL）可采用外周血。在骨髓干抽或某种原因不能获取骨髓的情况下，如外周血幼稚细胞大于 20%，也可采用外周血进行短期培养。另外，淋巴结穿刺液或淋巴结活检标本、浆膜腔积液以及中枢侵犯的脑脊液标本等均可作为核型分析的样本。标本需新鲜采集，骨髓采集量一般为 2~4 ml，肝素钠盐水抗凝，并尽快送至实验室接种。

除了 CLL、MM 等慢性淋巴系统增殖性肿瘤可以在培养体系中加入植物血凝素（PHA）等有丝分裂原刺激剂外，一般不加入刺激因子以免干扰核型分析的结果。

三、染色体制备

目前一般推荐骨髓细胞短期培养法。相对于直接法，应用 24h 短期培养法能获得更多的分裂象细胞进行核型分析，这是因为短期培养可促进白血病细胞的生长和有丝分裂，而正常细胞的增殖率反而降低，故异常核型检出机会较多。此外，采用直接法制备的标本不但分裂象数量较少，而且染色体的质量也较低劣，会直接影响后期的显带处理。短期培养法不但可提高分裂象的数量，而且也可使染色体数量和质量得到某种程度的改善。但为了确保染色体检测的成功并提高核型异常的检出率，有条件的实验室应尽量同时采用直接法和培养法制备骨髓细胞染色体。如果是 CLL、MM 等慢性淋巴系统增殖性肿瘤，可将培养时间延长至 72h，因为短期 24 h 培养所获得的有丝分裂象多来源于正常的髓系细胞，延长培养时间有利于异常克隆的检出。

骨髓培养接种量需根据有核细胞计数高低来确定，接种细胞数应控制在 $(1 \sim 3) \times 10^6/\text{ml}$ 培养液。如接种量过大，会影响细胞生长，减少有丝分裂象的收获。如标本有核细胞数过少，延长培养时间至 48 h 可增加分裂象的收获。

培养液主要由 RPMI1640 和胎牛血清混合而成。另外，培养液中还需加入

平衡盐溶液维持培养液的渗透压和酸碱度、双抗（链霉素和青霉素）抑制细菌生长等。

染色体的制备包括以下过程。

1. 纺锤体的抑制 秋水仙碱（colcemid）是一种生物碱，能够抑制有丝分裂，阻止纺锤体形成，并且可使染色体单体收缩。但这一作用不影响染色体的复制和着丝粒的分裂，因此，它可使细胞停留在分裂中期，从而获得大量的中期分裂象以供核型分析之用。秋水仙碱浓度增加或处理时间延长，可增加有丝分裂指数，分散程度好，但染色体会变短；浓度降低或作用时间缩短，则分裂指数降低，染色体拉长，分散程度变差。

2. 低渗 细胞经过秋水仙碱处理后，需要进行低渗处理，使染色体彼此散开，尽量减少交叉。低渗液的渗透作用不仅可使黏附于染色体的核仁物质散开，清楚显示每一个扭曲的染色体，同时还使细胞膨胀、细胞膜变薄，染色体容易铺开。低渗溶液是指渗透压和离子强度均低的溶液，一般用氯化钾溶液（0.075 mol/L），处理时间为 30~40 min，处理温度为 37℃。低渗可使染色体的轮廓清楚，可使染色性增强、染色时间缩短。但需要根据不同标本类型来调整低渗时间。低渗时间过短，染色体分散不好；低渗时间过长，胞膜脆弱易破裂，导致染色体人为丢失，另外染色体肿胀可导致带纹不清。

3. 固定 在杀死细胞的同时，避免所研究的成分受到破坏。固定还可抽提与染色体结合的组蛋白，显带后能产生清晰的带型，提高了染色体结构的可见性。在经过氯化钾溶液低渗处理后需要尽快加入少量新鲜配制的固定液进行预固定。预固定的作用在于开始细胞固化过程，使低渗后的细胞能耐受离心过程中的机械损伤，同时裂解红细胞。目前常用的固定液是由乙酸和甲醇按 1:3 比例混合而成，固定时间为 15~30 min。第一次加入固定液的速度一定要慢，以免造成细胞损伤。一般在室温下操作，有报道 4℃ 预冷的固定液可改善染色体的形态。需重复多次固定，如悬液仍存在较多红细胞，应增加固定次数，直至细胞悬液澄清。固定液中乙酸浓度增加，滴片时可增加染色体分散程度；反之，甲醇浓度增加，会降低染色体的分散程度。

4. 滴片 在滴片过程中，环境条件是影响染色体制备质量的主要因素。相对湿度的增加、温度的降低可以增加染色体的分散程度，其中相对湿度是影响染色体分散程度的主要因素，但当相对湿度升高和（或）温度降低到一定程度时，染色体的分散程度反而会降低。最常使用的方法为气干法，取浸泡于冰水中的洁净玻片，吸去多余水分，仅留一薄层均匀附着于玻片表面，用吸管吸取悬液从距玻片 10~20 cm 处滴 2、3 滴于玻片上，轻轻吹匀后，乙醇灯上过火 3 次使其干燥。另外可使用滴片仪法进行滴片。通过使用滴片仪可以在封闭环境中将温度、湿度和气流速度等染色体制备的重要影响因素调节到最佳状态，确保染色体分散的重

复性和一致性。但使用滴片仪时需根据不同实验室的实际环境条件确定合适的参数,才能够制备出高质量的染色体标本,提高染色体核型分析的准确性。

5. 显带 G 显带是目前国际主流的染色体显带方法,一般多选用胰酶 G 显带。染色体标本经胰酶处理后,再用 Giemsa 染液染色使染色体沿着纵轴呈现明暗相间的条带分布。G 显带带型清晰,有助于染色体异常的识别,但影响显带的因素较多,较难稳定控制条件;对分裂象质量和数量的要求较高,急性淋巴细胞白血病(ALL)等部分标本染色体容易发毛;另外多数染色体末端 G 显带为浅色,影响了对该区域异常的识别。R 带带型与 G 带正好相反,染色体末端为深带,可作为 G 带的补充,有助于染色体末端异常的识别,但 R 带带型不够清晰,对 inv(16)等精细异常的分析会受到影响。在染槽 0.25% 胰蛋白酶 5 ml 和 pH6.8 缓冲液 45 ml 混匀,保持溶液约 37℃,将玻片浸于染槽中 10~40 s,分别经生理盐水和蒸馏水洗涤后置于 10% Giemsa 溶液中染色 2~4 min,冲洗干净。每份标本均应先染 1 张玻片,显微镜下观察以确定胰酶处理及染片时间是否足够。新鲜玻片一般需要较短的胰酶处理时间,较老的玻片通常要求更长的胰酶处理时间。Giemsa 染液配制后不稳定,易于失效,因此每次使用 30~60 min 或以后均需重新配制。

四、制备注意事项

(一) 培养环节

应注意用于培养的标本细胞状态是否良好,是否存在细胞不新鲜、破碎、溶血、凝集、污染等情况,是否有足够的细胞活性。标本状态的好坏决定了所收获的中期分裂象的数量。解决办法:保证足够的骨髓标本采集量,2~4 ml,注射器内应预吸适量肝素钠生理盐水,采集后应立即混匀骨髓,动作轻柔,避免骨髓液溶血或凝集。标本采集后应尽快接种,避免过高或过低的环境温度影响细胞活力。在细胞培养过程中,须严格遵守无菌操作原则,同时在培养体系中需加入一定量的青霉素/链霉素以预防细菌感染。

培养基及试剂方面的常见问题:培养基过期、pH 变化、不同批次培养基稳定性差异太大,造成收获的分裂象少甚至无分裂象。解决办法:应选择质量稳定可靠的培养基及配套试剂。培养体系中必须包括 1640 培养基、胎牛血清、缓冲系统、谷氨酰胺、双抗等,配制过程需严格无菌操作,在更换不同批次培养基时必须设置与旧培养基的平行对照。

PHA 是外周血标本染色体制备最常用的有丝分裂原刺激因子。对于细胞刺激因子的应用原则需选择质量稳定的试剂,通过充分的预实验确定合适剂量以达到理想的效果。但对于除 CLL、MM 以外的血液系统恶性肿瘤,培养体系中不应加入刺激因子以免干扰核型分析结果。

需要提供适合细胞生长的良好外部环境：培养箱无菌、温度及湿度稳定、适宜的 CO_2 浓度等。

（二）收获环节

细胞收获是染色体制备的关键环节，对操作人员个人经验的要求非常高。实验中是否使用同步化试剂、收获时间的把握、低渗溶液以及固定液的配制、低渗时间的控制、固定的次数和时间、操作时的动作强度等均会影响染色体的收获效果，很难做到统一稳定，在此我们也列出几个重要影响步骤：

对细胞有丝分裂抑制剂的应用需选用稳定可靠的试剂，各个实验室应根据自己的实验情况确定秋水仙碱的剂量和作用时间。

低渗需适当充分。由于肿瘤细胞抗机械损伤能力差，适当充分是在保证充分低渗的前提下不让细胞破碎，以免引起染色体随机丢失，干扰后期的染色体分析。因此需要注意以下方面：低渗液浓度适当、作用时间把握好、尽量用气泡吹打细胞以保证细胞充分混匀、在合适的温度下进行低渗等。

反复多次固定细胞，洗去杂质和细胞碎片，并保证固定充分。每次收获细胞必须使用新鲜配制的固定液，乙酸和甲醇均需使用分析纯级别的产品，并按照 1 : 3 配制。4℃ 预冷的固定液效果较好。

HANNABI 系列的染色体全自动收获仪可设置多个不同细胞收获程序以满足不同类型标本的收获要求，实现了实验操作的智能化，保证收获细胞质量的长期稳定。有条件的实验室可以选择使用。

（三）制片环节

滴片是染色体制备过程中最难把控的环节，也是受操作者经验影响最大的环节。染色体滴片后，随着固定液的挥发，固定液层逐渐变薄，液体的表面张力会将细胞平铺，通过挤压上下层的胞膜将染色体分散开。如干燥速度过快，染色体分散不好，胞浆背景明显，会严重影响后期的显带和染色；而干燥速度过慢，表面张力会将胞膜挤破，使部分染色体游离出细胞区域，造成核型分析时误判为染色体缺失。实验室中的相对湿度、环境温度、空气流动速度等均可影响固定液挥发的速率，造成染色体分散程度以及胞浆背景强弱的差异，影响制片质量的好坏。基于上述理论，各个实验室衍生出了千差万别的滴片方法，但这些方法对操作者个人经验要求相当高，需要非常熟悉各种影响因素，并根据所滴玻片的情况随时进行调整。在此也分享一些滴片的经验。

1. 细胞悬液需用新配固定液调到合适的浓度后再进行滴片，滴片前要充分混匀，并尽量去除细胞碎片等杂质。悬液过浓会影响染色体的分散，悬液过稀会增加后期寻找分裂象的工作量。

2. 制片室内环境的温度、湿度要控制在合适的范围内,相对湿度在 40%~60%,温度在 20℃左右。

3. 载玻片必须干净,无油腻感,无颗粒。

4. 滴片高度的增加可改善染色体的分散。

5. 过火需用湿片,数次通过酒精灯火焰上方,通过控制载玻片上固定液挥发的速度,以达到最佳的染色体分散效果。这也是人工操作中难度最大、最难控制均一稳定的环节。滴片室需配备相差显微镜,每份标本应根据相差显微镜下观察到的玻片情况对过火强度随时进行调整。遗憾的是,即使最有经验的操作人员都无法保证每一次均能制备出高质量的染色体玻片。

6. 如因天气原因造成连续玻片质量不佳,不应强行继续,应待天气情况适宜时再继续滴片,以免浪费宝贵的骨髓样本。

7. 可选用染色体滴片仪提供稳定可控的温度、湿度环境,但需经过充分的预实验来设定合适的参数以达到最理想的分散效果。

五、染色体核型分析

染色体核型分析是以分裂中期染色体为研究对象,根据染色体的长度、着丝点位置、长短臂比例、随体的有无等特征,并借助显带技术对染色体进行分析、比较、排序和编号,根据染色体结构和数目的变异情况来进行诊断。血液系统恶性疾病进行核型分析的目的在于发现克隆性染色体异常。但核型检查结果正常也不能否定诊断,一方面可能由于在病程早期白血病细胞克隆小,所占有核细胞的比例低;另一方面某些慢性淋巴增殖性肿瘤,如 CLL、MM 等肿瘤细胞在体外增殖指数低而导致异常克隆检出率低。由于光学显微镜下分辨率有限,某些亚显微片段的插入、扩增或缺失改变难以识别,需结合 FISH、PCR 等分子遗传学的方法才能得出准确诊断。

染色体核型分析是一项十分细致的工作,特别是在进行恶性血液病的细胞遗传学检查时,要求检查者有极大的耐心和一定的血液学背景知识。分析时还需注意以下问题。

1. 先在低倍镜下按照从左到右、从上到下的顺序扫读玻片,挑选分散好、大小适中、基本无交叉重叠的分裂象,然后在油镜下进行分析。首先计数中期分裂象中的染色体众数,每个分裂象连续两次计数结果必须一致,每次计数的起点需不同。若染色体数目少于 46 条时应仔细检查该分裂象周围是否有丢失的染色体,若染色体数目多于 46 条时也应仔细检查周边以判断是否为旁边的分裂象过度分散所致。除了形态极差的分裂象无法分析之外,扫读玻片看到的所有中期分裂象都需分析,即遵循“随机”原则,避免只挑选形态好的分裂象进行分析。因

为形态好的中期分裂象往往来源于正常造血组织，会人为造成假阴性的结果。

2. 每份标本应至少分析 20 个中期分裂象，并记录每个分裂象的坐标及核型。如异常克隆已经明确，如 CML 的 $t(9; 22)$ 等只需分析 10 个分裂象即可；如高度怀疑异常但无法定为克隆者，需多分析 5~10 个分裂象。

3. 最好采用绘图分析。分析时至少 2 个骨髓细胞中获得相同的染色体增加或结构异常，或者至少 3 个细胞中发现相同的染色体丢失，方可确认存在异常克隆；在 2 个以上细胞中出现至少 3 个独立的染色体异常则为复杂染色体异常。除原有的核型异常外，在 2~3 个或以上细胞中出现新的克隆性改变，为克隆演变。曾发现的克隆异常，在后续的检查中再次发现同样的畸变时，即使只有一个细胞，也要在核型中予以描述，如治疗后的白血病。

4. 由于染色体核型异常有时来源于不同的克隆，因此，检查者不能仅限于已发现的异常，还要注意有无其他伴随异常存在，以免造成漏检。

5. 如染色体易位见于所有分析的细胞，应加做患者外周血标本，加 PHA 的 72h 培养染色体核型分析，以排除体质性异常的可能。但对于意义明确的染色体易位，如 $t(9; 22)$ 、 $t(15; 17)$ 、 $t(8; 21)$ 等不需如此。

6. 染色体带型是判断是否存在异常的主要依据，染色体的大小仅能作为参考，因为位于中期分裂象外围的染色体可能由于消化的关系显得较为“胖大”，造成两条同源染色体间的大小差异较大。另外，在染色体制备过程中，由于重叠、扭曲、拉长、浓缩或断裂等均可造成正常染色体形态的变异，在分析异常的时候要充分考虑这些可能。

7. 对染色体异常的分析有一个逐渐深化的过程。在刚发现异常的时候，可能一时无法明确其来源，可将其标记，继续往下分析，直至发现带型较为清晰的分裂象明确性质后，再重新分析以前的异常细胞以进一步确定是否为相同改变。另外，在分析染色体的结构异常时，需充分发挥想象力，考虑异常的各种可能性，如易位、插入、重复、缺失、倒位、等臂等。

8. 对偶见的多倍体细胞或明显的亚二倍体一般不进行分析，除非这些异常的数量很多。对于后者要充分考虑低渗过度，造成染色体随机丢失的可能性。

9. 分析时应充分了解患者临床信息以及骨髓形态学、免疫分型、分子诊断等检查的结果，对可能疾病常见的染色体异常进行重点排查；但不可过分拘泥于这些信息，以免被误导。

染色体核型分析系统采用先进的计算机图像处理技术，利用高灵敏度的 CCD 将显微镜下的中期分裂象图像实时传输输入电脑，通过软件工具对染色体图像进行分割、智能化分离等处理，自动计数染色体众数并进行核型排列。核型分析系统可以极大提高研究人员的工作效率，并且克服了常规镜检所存在的不直观、个体间观察结果误差大、准确度差等弱点，避免分析人员视觉疲劳可能造成的误

诊或漏诊。通过计算机系统可储存大量的染色体图像，直接打印图文报告，并能随时调出查阅、对比、分析，大大节省因保存大量玻片所造成的人力和物力消耗。

随着自动化技术的发展，出现了全自动智能核型分析系统，可通过软件操控全自动显微镜来自动查找染色体中期分裂象，并对染色体组型进行智能化分析。系统配置了全自动正置一体化显微镜并带有独立电动控制单元，同时配备了全自动的高精度电动扫描载物台，所带的染色体自动扫描软件具备自动聚焦、自动计算焦平面功能，焦平面测量结束自动开始10倍镜下扫描，并记录每一个中期分裂象细胞的坐标位置。显微镜可自动查找到清晰、分散度好的染色体中期分裂象，依次自动对焦和采图；可设置不同查找数量并具有学习记忆功能，根据用户设定的最好的中期分裂象进行扫描和采集。全自动智能核型分析系统能够将扫描玻片的时间缩短至数分钟，极大提高了研究人员的工作效率，而且经系统扫描后，多名工作人员可在各自的工作站同时进行不同患者的染色体核型分析工作，极大加快了分析速度。越来越多的细胞遗传学实验室通过选择全自动智能核型分析系统，明显缩短了报告周期，提高了分析判断的准确度。