

血液病论文资料 汇 编

中华医学会陕西分会血液病学会

一九八三年五月

目 录

论 文

1. 中性粒细胞硷性磷酸酶NAP测定在白血病鉴别诊断中的价值……………韩丽等(1)
2. 急性白血病细胞的膜标记——附30例标记观察结果小结……………武 耀(4)
3. 白血病患者血清乳酸脱氢酶及同功酶测定……………叶民刚等(9)
4. 中枢神经系统白血病的诊断问题……………原青均等(12)
5. 改进的HAMPT方案治疗急性非淋巴细胞型白血病长期生长三例报告……………吴世华(17)
6. 生存五年以上的急性粒细胞性白血病(附一例报告)……………佟瑞芝(22)
7. 44例小儿急淋白血病亚型与治疗的观察……………徐志锐等(24)
8. 慢性粒细胞白血病24例临床分析(附4例脾切的观察)……………王崇洲等(29)
9. 大剂量激素VP方案治疗五例难治性急性淋巴细胞型白血病的临床观察
……………周吉胜等(33)
10. 白血病前期五例报告……………吴世华(36)
11. 贫血状态体表多部位微循环的观察与探讨……………田国栋等(41)
12. 贫血状态患者动脉血酸碱平衡紊乱与气体分析的探讨……………田国栋等(48)
13. 血清缺蛋白检测在缺铁性贫血中的应用……………陈明钰等(53)
14. 常见几种贫血血清缺蛋白值的初步观察……………黄昌亮等(57)
15. 陕西省1073名小儿营养性贫血的调查……………陕西省营养性贫血协作组尹净执笔(60)
16. 华阴地区巨幼细胞贫血的调查(摘要)……………叶民刚等(68)
17. 造血干细胞培养对再生障碍性贫血发病机理的研究……………田俊士等(69)
18. 陕西省异常血红蛋白及其生化遗传的调查研究……………谭渭泉等(74)
19. 全胚注射液治疗51例再生障碍性贫血疗效观察及随访……………雷伦等(79)
20. 生血丸和雄性激素治疗53例再生障碍性贫血疗效观察……………周淑意等(82)
21. 经穴注射治疗32例慢性再生障碍性贫血疗效观察及随访……………雷 伦(86)
22. 西研五味丸治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿四例效果观察……………原青均等(90)
23. 骨髓浆细胞增多症204例分析……………邵文斌等(95)
24. 对血友病实验室检查主要指标的观察——附261例血友病临床分析
……………徐志锐等(100)
25. 连续血细胞分离机的临床应用……………沈素云等(108)

专 题 报 告

1. 中西医结合诊断研究白血病和再生障碍性贫血的进展……………陈开凌等(112)

2.造血干细胞的实验研究及临床应用·····	李梅生(124)
3.单克隆抗体及其在血液学中的应用·····	崔运昌(140)
4.单克隆抗体用于人类淋巴细胞白血病分型方面的进展·····	金福生(148)
5.营养性巨幼细胞性贫血几个问题的研究及文献复习·····	冉家彦等(153)
6.自身抗体及其荧光抗体检查方法·····	王伯灏(166)

中性粒细胞硷性磷酸酶NAP测定在白 血病鉴别诊断中的价值

西安医学院第一附属医院内科 韩丽 李菊仙

近年来国内外对白血病的分型研究日渐重视,不同的细胞类型或亚型与治疗效应及预后都有一定的关系。慢性粒细胞性白血病(CML)是慢性白血病中最常见的类型,而慢粒急变已列入急性白血病特殊类型之一,随着人们对慢粒急变认识的不断深入,发现慢粒急变的初发型亦不少见。近年来又提出了一个少见的“慢性中性粒细胞白血病(CNL)”,此与CML的关系如何?其急变与慢粒的急变如何区分?CNL、CML与类白血病反应又如何鉴别?在我们的临床工作中已遇到了一些问题,为提高临床诊断水平,我们从细胞的组织化学方面作了一些探索,现就中性粒细胞硷性磷酸酶活性测定在白血病鉴别诊断中的应用价值总结于下。

材 料 与 方 法

病例选择:选自我室1981.1—1982.8经检查确诊未经治疗的、并作过髓片NAP测定的有关患者127例。其中急性白血病84例(急非淋53例,急淋18例,淋巴瘤细胞性白血病10例,慢粒急变3例),慢粒17例,感染及类白血病反应26例。

NAP活性测定采用Gomori氏钙钴法。用新鲜髓片进行染色,结果判断:根据中性分叶粒细胞浆中不溶性黑色颗粒沉淀程度,无色者为阴性;胞浆中出现灰色至黑色颗粒沉淀者为阳性,按其阳性程度划分为4级,1分—4分。每例计数100个成熟中性粒细胞,计算其阳性细胞的百分数,并将每个细胞的记分相加,得出积分。每次染色均须有已知阳性的髓片或血片对照。正常人:细胞阳性率平均20—40%,积分平均为30—50。

结 果:

127例患者NAP活性测定结果见表:

127例患者髓片NAP测定结果

类 型	例 数			阳性病例中细胞阳性率		阳性病例中NAP积分	
	总例数	阳性数	阳性率	范 围	平 均 值	范 围	平 均 值
急非淋	53	16	38%	35—96%	67%	93—218	153
急 淋	18	10	69%	80—100%	94%	112—344	242

淋巴瘤细胞性白血病	10	9	9 10	48—100%	80%	64—310	152.2
慢粒急变	3	3	3 3	55—100%	93.7%	155—338	259.7
慢粒	17	3	12%		8%		14
感染与类白血病反应	26	26	100%	53—100%	94.8%	120—398	258.4

从表中可以看出:

1. 53例急非淋NAP染色阳性率为38%; 18例急淋的阳性率为69%; 10例淋巴瘤细胞性白血病中9例为阳性; 3例慢粒急变者均为阳性, 17例慢粒中仅2例为阳性; 26例感染及类白血病反应的阳性率为100%。

2. 在阳性病例中, 阳性细胞百分率的平均值: 急非淋为67%, 急淋为94%, 淋巴瘤细胞性白血病为80%, 慢粒急变为93.7%, 慢粒为8%, 感染及类白血病反应者为94.8%。

3. 阳性病例中NAP积分的平均值: 急非淋为153分, 急淋为252分, 淋巴瘤细胞性白血病152分, 慢粒急变为259.7分, 慢粒为14分, 感染为258分。

讨 论

1939年Gormori首先论证了血细胞和骨髓细胞内NAP的活性, 1964年WachSsein证实了髓细胞中只有成熟中性粒细胞具有其活性。后国内外学者将其用于各种疾病的诊断之中^(1-13, 15-18), 尤其是各型白血病的鉴别诊断。现将我们在白血病鉴别诊断中应用NAP染色的一些看法叙述如下:

NAP与白血病分型的关系: 根据全国白血病分类分型会议的标准⁽¹¹⁾, 关于急非淋与急淋的区别, 特别是 M_1 与 L_1 的区别, 有时尚难以判断。据以往文件^(15, 16, 18, 19, 20)报导, 急非淋患者治疗前NAP活性减低, 即使使用激素治疗, 也不能使其升高; 而急淋之NAP活性增高。本组53例急非淋中, 发现NAP活性增高的阳性病例并不少见, 其平均积分值也较高, 此与个别文献⁽¹⁶⁾中报告相符。与急淋比较, 经统计学处理二者无显著性差异($\chi^2=2.576$, $t=1.89$, 故 $P>0.05$), 特别是急非淋 M_1 , 5例中就有4例是阳性, 其中1例积分高达218; 而急淋中也有不少阴性患者, 故我们认为用NAP活性测定不能正确的区分急淋与急非淋, 与POX及SB染色法比较, 其可靠性较差。至于在急非淋各亚型中的诊断意义, 因各型例数较少, 不易比较, 有待今后进一步观察。

比较18例急淋与10例淋巴瘤细胞性白血病中NAP活性测定, 二者亦无显著性差异($\chi^2=3.497$, $t=1.132$, 故 $P>0.05$), 故NAP染色对二者之鉴别诊断亦无特异性。

慢粒髓片中NAP活性明显减低, 与各家文献报导相符。

慢粒急变髓片中NAP活性显著增高, 本组三例全部为阳性, 其阳性率与积分均较高, 与急粒比较似有显著性差异, 与各家报导相似, 且其阳性率与积分之高类似感染与

类白血病反应。尤其值得提出的是该三例患者中,两例是初发型慢粒急变,以往无白血病病史,均系女性。其中一例22岁,另一例44岁。起病较快,均有发热、紫癜、肝脾不大(一例肝脏肋下2厘米可触及)。血象检查均有贫血与血小板减少,第一例白细胞为60,800/立方毫米,髓内细胞增生明显活跃, $G:E=7.8:1$,原粒加早幼粒细胞占24.8%,以各期成熟粒细胞增生为主,血及髓片中均未见嗜硷粒细胞,嗜酸细胞亦不增多,红系及巨核细胞系不受抑制,细胞类型为“急粒变”;第二例则系“急单变”,白细胞计数为83,000/立方毫米,原单核细胞加幼单核细胞占34%,髓内细胞增生明显活跃,“原单”加“幼单”细胞占绝大多数,但可见比例增高的嗜硷粒细胞及嗜酸粒细胞,巨核系及红细胞系统抑制。二者成熟中性粒细胞中均有中毒颗粒及空泡变性,NAP活性测定二者均明显升高(阳性率分别为93%及100%;积分为338及283分),因而第一例初诊时曾疑为“类白血病反应”,第二例因有嗜硷细胞增多而疑诊为慢粒急单变(初发型),但反应性改变亦应考虑。按类白血病反应抗感染加激素治疗均无效,且临床上未查出原发病因,患者情况很快恶化,加用抗白血病化疗,亦无好转,后自动出院,最后诊断为“慢粒急变初发型”。通过该两例患者使我们认识到,对于初发型慢粒急变,尤其是嗜硷粒细胞减少的患者,不能靠髓或血片之NAP活性测定与类白血病反应相鉴别,作为误诊的教训,应引起注意。

自从1920年Tuohy首先描述“慢性中性粒细胞白血病(CNL)”以来,国外陆续有散在病例报导。该病的特征是⁽³⁾:①血象有明显而持久的成熟中性粒细胞增高,伴中毒性改变,髓象中粒细胞系明显增生,原粒细胞不增高,常无嗜酸及嗜硷细胞;②肝脾肿大;③血及髓片中NAP活性明显增高;④晚期可急性变;⑤血清维生素 B_{12} 及尿酸增高;⑥无 Ph^1 染色体。有人认为它是慢粒的亚型,但多数学者则认为是一种独立的疾病。此类患者容易与类白血病反应和慢粒混淆,尤其是血细胞的中毒性改变、嗜硷细胞不高及NAP的强阳性反应更难与类白血病反应区别。我们上述的第一例患者(慢粒急变初发型),也曾疑为CNL,但根据肝脾不大、原始细胞的增多而未诊断。问题是CNL的急变有无初发型、肝脾不大的表现呢?此类患者与CML的初发型急变而不伴嗜硷粒细胞增高的、NAP强阳性者又如何区别呢?是否是同类疾病的不同亚型。嗜硷粒细胞减少型的初发型慢粒急变与急粒又如何鉴别?本组第一例患者因两次髓片复查,粒细胞增生均以成熟细胞为主,且红细胞系及巨核细胞系不受抑制,NAP活性明显增高,抗白血病治疗效果差,尽管考虑慢粒急变可能性大,但仍感依据不足。另外在本组26例感染与类白血病反应中,有一例男性63岁患者,左上肢包块一年余,白细胞持续升高达5万左右,查体肝不大,脾肋下6厘米,血片中以成熟粒细胞为主,中性杆状核及分叶核达97%,骨髓增生明显活跃, $G:E=8:1$,仍以成熟粒细胞为主,髓与血片中中毒颗粒明显,红系及巨核系正常,NAP积分一次为331分,三个月后复查积分为391分,抗感染治疗无效疑为CNL。故从细胞形态学及组织化学方面,CNL与类白血病反应又如何鉴别?均值得血液病工作者进一步探索。

NAP与类白血病反应的关系:感染(尤其是细菌及化脓性感染)及类白血病反应患者,血细胞NAP活性明显增高,我们的26例患者与文献报导相符⁽⁴⁾,且感染与类白血病反应中NAP的细胞阳性率及积分增高程度无明显差异,但本组患者中有一例类白

血病反应系“变应性亚败血症”所致，其NAP阳性改变二次复查均持续在高水平(97%，95%；326分，315分)，该患者持续发热达23周，曾疑为“肺结核”、“伤寒”等所引起，抗痨、抗感染及激素治疗无效，后持续静脉点滴糖皮质激素方奏效。故不明原因的发热、白细胞NAP活性持续增高的类白血病反应，结合临床变应性亚败血症之可能亦应考虑。

关于NAP的调节机制，目前尚不甚明了，在正常或病理情况下，它与白细胞总数无关，与血清硷性磷酸酶之间亦无相关性。有人认为在应激情况下，垂体——肾上腺皮质活动加强，NAP活性增高，亦与性激素有关。有人尚认为与细胞代谢有关，与染色体有关。但在单核细胞增多症患者其活性反而减低⁽¹⁷⁾。恶性血液病中，有些NAP活性增强（如部分急淋、恶性淋巴瘤、慢粒急变、部分急非淋等），有些又明显减低（如慢粒、恶组等）。其机制尚待进一步阐明。

小 结

本文报导101例白血病及26例感染患者的髓细胞NAP活性测定。结果急非淋、急淋与淋巴瘤细胞白血病间无显著性差异，均可呈强阳性反应，亦可为阴性；慢粒髓细胞NAP活性明显减低；慢粒急变者则明显增高，其酶活性与感染及类白血病反应相似。故NAP活性测定呈强阳性反应者，应首先考虑类白血病反应，但并不能完全排除白血病之可能，特别是慢粒急变的初发型及CNL；硷性磷酸酶染色阳性，对M₁与L₁的鉴别意义不大。应结合临床进一步探讨其他鉴别诊断之依据。

急性白血病细胞的膜标记

——附30例标记观察结果小结

西安市血液研究所 武 耀

随着免疫学的进展，从免疫的角度为肿瘤和白血病的诊断与治疗，开辟了广阔的前景。

几年来，我们对急性白血病细胞的表面抗原（即胞膜抗原）进行了研究，即用分纯的白血病细胞制备了胞膜抗原，以此来免疫异种动物（兔），而获得具有特异性的兔抗血清，并将此抗血清再经进一步纯化后，既可用于实验室诊断，亦可用于临床诊断（皮试），且已取得一定的效果，本文将要介绍的是急性白血病细胞的膜标记，便属于实验室诊断的方法之一。

所谓膜标记，即依据免疫学抗原——抗体结合反应的原理，以免疫法获得的膜抗体作为载体，载上荧光素后让其与未知的抗原作用，若这对抗原——抗体结合是特异性

的，则荧光素亦被标记于其上，若果这对抗元——抗体不是特异性的，则不发生结合，故荧光素也不会被标记于未知细胞的膜上，以此可以达到鉴别与诊断的目的。

荧光膜抗体标记，有直接法和间接法二种，我们所采用的是间接法。现将我们的实验方法及结果汇报总结于后，供同志们参考。

材料及方法

材料：①、自备的急性白血病抗血清〈诊断血清〉——抗急粒和抗急淋兔血清〈即膜抗血清〉。“注”白血病诊断血清〈膜抗血清〉系分离白血病人~~的白血病~~细胞后，按Eaton及Aemgulst法提取膜抗原，并以此免疫异种动物（兔），而获得的膜抗血清，同时对免疫获得的抗血清以正常人混合白细胞、红细胞及混合血清吸收后与进一步纯化处理，并经免疫学鉴定仍具有特异性的抗血清（即诊断血清）。

②、羊抗兔 γ -球蛋白荧光抗血清。

③、待诊的急性白血病人~~的~~〈未知的〉血片或骨髓片，〈每个病人留2—3张片子，标记染色时用2张〉。

④、0.01M的PBS液〈PH7.2〉。

方法：一、实验组：

1. ①将待检的白血病血片或骨髓片，经甲醇固定五分钟后，取出待自然干燥。

②另一方法是：先将待检的血片或骨髓片，用清水〈蒸馏水〉快速溶解其红细胞后，水洗吹干，仅留白细胞，然后再用甲醇固定之。〈其目的在于减少血浆球蛋白的干扰，便于观察结果，同样亦可起对照染色的效果〉，以下的标记染色步骤均相同。

2. 滴加诊断血清使布满全片，然后放入湿盒内置37℃温箱30分钟后取出。

3. 用电磁搅拌器水洗〈以0.01MPBS PH7.2〉三次每次洗5—10分钟。

4. 用风扇吹干。

5. 滴加羊抗兔荧光抗血清，仍使其布满全片，然后再放入湿盒内置37℃温箱40分钟后取出。

6. 用电磁搅拌器水洗〈以0.01MPBS PH7.2〉三次。

7. 50—70%缓冲甘油加盖片封固。

8. 在荧光显微镜下观察结果，看被标记的细胞表面及外周有无荧光素存在，以此判定诊断。

二、对照组：

1. 白血病待检病人的阴性对照：即给每个受检病人作一个对照，当其血片或骨髓片经固定处理后不加诊断血清，而直接以羊抗兔 γ -球蛋白荧光抗血清标记之，并观察其标记结果。

2. 正常健康人对照：所谓正常对照只不过是相对而言，肯定的一点是即均为非白血病病人，但一般多数是选用外周白细胞总数高于正常的，因而这类病人临床上均可能有感染或炎性反应。本组所选择的对象为献血员查体中白细胞数高于正常者。以及门诊病人中外周白细胞数高的病人的血片〈非白血病病人〉。

本组实验分两部分：

①、正常人（相对的）血片经固定处理后分别与两种不同的诊断血清作用后水洗，再与羊抗兔荧光抗血清作用，即可观察结果。

②、正常人〈相对的〉血片经固定处理后，不给加诊断血清而直接以羊抗兔荧光抗血清标记后观察结果。

3. 其它血液病对照：本组主要选择了部分贫血病人和少见白血病病人作对照。

①、贫血病人的骨髓片或血片经固定处理后，分别加诊断血清或不加诊断血清作用，再以羊抗兔荧光抗血清作用后观察标记结果。

②、少见白血病病人〈病历少仅有2例单核细胞白血病，红白血病及组织细胞白血病各1例〉血片或骨髓片固定后加诊断血清与不加诊断血清，然后再以羊抗兔荧光抗血清标记染色后观察结果。

结 果 与 分 析

用AGL（急粒）和ALL（急淋）两种诊断血清，以间接荧光标记法，对30例急性白血病人人的血片或骨髓片所作的标记染色结果〈即诊断结果〉见下表：

诊断血清类型 \ 标记结果	标记阳性 (显荧光)	标记阴性 (不显荧光)	备 注
AGL	19例	11例	有2份标本涂的太厚和染色处理的不好而影响标记结果。
ALL	9例	21例	

从上述荧光膜抗体标记结果来看，用两种诊断血清以间接荧光标记法，同时对30例未知〈待诊〉的急性白血病人进行了荧光抗体标记染色诊断，其中与AGL诊断血清作用后，而被荧光素所标记呈阳性反应结果的19例、11例为阴性；与ALL诊断血清作用后，而被荧光素所标记呈阳性反应结果的仅有9例，阴性反应结果的有21例。实验过程中其中有2份标本涂抹太厚且处理不当而未显荧光〈呈阴性〉，并且经实验室其它诊断所证实这2份标本不该显阴性。所以由此结果即可判明在30例急性白血病初发病人中，急粒为21例；急淋有9例。

另外从间接荧光膜抗体标记染色的结果亦还表明，用AGL和ALL两种诊断血清对30例未知病人的血片或骨髓片进行标记染色过程中，与AGL诊断血清作用而被荧光素所标记呈阳性反应结果的却与ALL诊断血清不发生反应，即不被荧光素所标记呈阴性

反应结果；相反与ALL诊断血清作用而被荧光素所标记呈阳性反应结果的却与AGL诊断血清不显反应，则不被荧光素所标记，即呈阴性反应结果。由此也便充分的说明在AGL和ALL的抗原之间并无交叉性。

再从阴性对照实验来看，对30例未知型病人的血片或骨髓片经固定处理后不加诊断血清，而直接以羊抗兔 γ -球蛋白荧光抗血清标记之，其结果均为阴性。

对20例正常人〈相对的〉血片加白血病诊断血清和不加白血病诊断血清作用后，以羊抗兔荧光抗血清标记的结果见下表：

诊断血清类型	试验结果	标记阳性 (显荧光)	标记阴性 (不显荧光)	备 注
加AGL		无	20例	
加ALL		无	20例	
未加诊断血清		无	20例	

从上面的实验结果来看，在20例正常人的血片对照标记染色中，加白血病诊断血清与不加白血病诊断血清其结果一般均为阴性，即未被荧光素所标记，这说明在正常人（非白血病病人）的血片中没有白血病相关抗原的存在，但在个别加有ALL诊断血清的血片中偶尔见有极个别的淋巴细胞呈阳性标记，此种偶发现象的产生可能是由于ALL诊断血清在以正常的混合白细胞吸收时，其正常同簇抗原吸收不全之故，另外也有可能是由于血清中的抗人球蛋白而受到影响，但是并未影响到诊断结果。

对15例贫血病人〈除外再障〉的骨髓片或血片加白血病诊断血清与不加白血病诊断血清作用，以羊抗兔荧光抗血清所标记的结果见下表：

诊断血清类型	试验结果	标记阳性 (显荧光)	标记阴性 (不显荧光)	备 注
加AGL		无	15例	
加ALL		无	15例	
未加诊断血清		无	15例	

从前面的实验结果来看，对15例贫血病人骨髓片或血片的标记染色中，加白血病诊断血清与不加白血病诊断血清，其结果均为阴性，这说明在贫血病人的骨髓片或血片中同样也无有白血病相关抗原的存在。

另外在少见白血病的标记染色方面〈因病历数少〉，从仅有的2例单核细胞白血病、1例红白血病和1例组织细胞白血病的骨髓片或血片与白血病诊断血清作用或不加白血病诊断血清，以羊抗兔荧光抗血清标记的结果来看，其中，组织细胞白血病的骨髓或血片加白血病诊断血清或不加白血病诊断血清，标记染色后其结果均为阴性；红白血病的骨髓片加白血病诊断血清（ALL）后标记结果呈阴性〈即细胞表面不显荧光〉；而加AGL诊断血清后标记结果部分细胞呈现阳性反应〈即显示有荧光〉；2例单核细胞白血病的骨髓片或血片与ALL诊断血清作用后，标记染色呈现阴性结果〈即不显荧光〉。

光>，而与AGL诊断血清作用后标记染色的结果，其中1例呈现阴性反应<不显荧光>，而另1例则呈现部分标记阳性<显荧光>，这种阳性标记现象的出现，说明在粒细胞与单核细胞之间可能存在有同族抗原而出现的交叉反应，另外再从体外干细胞培养的大量资料证实，粒细胞与单核细胞同源——即为一个干细胞来的<体外软琼脂培养上生长呈混合型细胞团>。至于说它们的抗原性到底有无差异性，因为例数太少尚难肯定，这一点还有待于今后进一步的探讨。

讨 论

本文实验之所以选用间接荧光膜抗体标记法，其目的主要在于为使免疫所获得的膜抗血清具有多种实验用途。当然亦可以以这种抗血清作为载体，标上荧光素后而用于直接标记染色（直接法）。

在间接法中，其抗原——抗体结合是特异性的，但这种抗体是用人类白血病细胞的膜免疫异种动物（兔）后获得的<即已知的兔抗人血清>，因在未知的抗原与已知的抗体结合后，尚需有一个明显的标记，以资鉴别或证实它，故选用荧光素作指示，而利用荧光素则需要有载体（在间接法中即谓之第二载体），于是便选用相对应的羊抗兔 γ -球蛋白血清抗体作载体，标上荧光素后用于标记染色。

根据免疫学的基本原理，其间接荧光标记法，实则是两组抗原——抗体结合反应的结果，即第1抗原——抗体结合反应为人的白血病细胞膜抗原<未知或已知>加上已知的兔抗人白血病细胞的膜抗血清反应；第2组抗原——抗体结合反应为，兔抗人 γ -球蛋白血清（抗原）+羊抗兔 γ -球蛋白血清抗体（载有荧光素），所以若第1反应的发生是特异性的，则第2反应必然也随之发生，且亦属特异性的，即借助于第2载体将荧光素标记于待检的（未知）细胞膜之上。根据荧光素于细胞膜存在的指征和已知诊断血清类型，即可鉴别与确诊。

另外从本文的实验观察结果来看，进一步的证实了我们以胞膜抗原所制备的抗AGL兔血清和抗ALL兔血清是具有一定特异性的，可作为一种诊断血清用，以此来鉴定未知的急性白血病人（未定型的新病人），可达到鉴别与确定诊断的目的。因为在30例急性白血病人中，其白血病细胞膜抗原与已知的抗AGL兔血清（诊断血清）作用后，再与羊抗兔荧光抗血清作用，而被荧光素所标记呈阳性的标本19例，但未被标记呈阴性的有11例；同样用30例急性白血病人的白血病细胞膜抗原，与已知的抗ALL兔血清作用后，再与羊抗兔荧光抗血清作用，其中被荧光素所标记呈阳性的<即显示荧光>仅有9例，而其余21例未被荧光素所标记呈阴性结果<不显荧光>；同时实验的结果亦还表明，利用已知的两种诊断血清<抗急粒和抗急淋>，每份标本两张片子<即一个病人2张片子>进行标记染色试验，同一标本对于已知抗AGL血清作用后，被荧光素所标记呈阳性反应的，而于抗ALL血清作用后未被荧光素所标记呈阴性反应<不显荧光>；相应的对已知抗ALL血清作用后，被荧光素所标记呈阳性反应的，而于抗AGL血清作用后未被荧光素所标记呈阴性反应。显而易见，这种结果充分的说明并证实了在AGL和ALL之间并无交叉性，进而亦证实了诊断血清的特异性。以此可对未知型的白血病人

人进行诊断与鉴别诊断。

再从受检白血病患者的阴性对照来看,其骨髓片或血片不加诊断血清,而以羊抗兔荧光抗血清标记后均呈阴性反应〈不显荧光〉,这说明在间接荧光标记染色中,没有第1抗原—抗体结合反应的复合物产生而第二反应亦不能发生,故荧光素也不会被标记于细胞的表面膜上,由此亦同样的说明了诊断血清的特异性。

另外在20例正常人〈相对的——非白血病人〉与15例贫血病人的对照性标记染色中,其血片或骨髓片加白血病诊断血清〈AGL、ALL〉作用或不加白血病诊断血清,而标记染色的结果均为阴性反应〈不显荧光〉,这种实验结果说明在正常人和贫血病人的血片或骨髓片中没有白血病相关抗原的存在。

至于粒细胞与单核细胞之间有无共同抗原的问题,目下尚难定论我们将准备继续进一步的研究探讨与不断积累这方面的资料。

总之,从实验组及对照组的实验结果均证实了我们所制备的白血病诊断血清的特异性与可靠性。

间接荧光膜抗体标记法,其实验本身操作比较简便,特异性强、准确性高,但易受条件因素的影响,特别是用于实验的器皿用具的自发荧光的存在,对实验结果的观察会有一定的影响,因而实验器具要绝对清洁而无自发荧光存在,才能确保实验结果少受影响。

小 结

①、本文主要的介绍了利用间接荧光标记法,以急性白血病细胞的膜抗体来复标记白血病细胞的膜,借助于荧光素的存在与否,来鉴别与确诊白血病的类型。

②、根据本文的实验结果观察及对30例白血病人标记染色小结报告,充分证实了急性白血病患者细胞表面膜相关抗原的特异性,利用这种间接荧光膜标记方法在诊断方面的准确性和可靠性。同时亦证实了诊断血清〈膜抗血清〉的特异性。

③、本法在诊断方面不受主观因素的影响,反映结果真实,且操作方法简便,宜于推广。

白血病患者血清乳酸脱氢酶及同功酶测定

西安医学院第二附属医院 叶民刚 孙国英 乔信*

乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase简称LDH)测定,目前已广泛用于辅助多种疾病的诊断,但较少用于白血病的诊断,特别是同功酶,我们测定了正常人不同类型白血病患者及其它血液病患者血清LDH及同功酶,发现白血病患者显著升高,现报告如下:

• 进修医生

资料及方法

一、对象：测定了健康人30例，不同类型白血病患者28例，男13例、女15例，平均年龄28.7（14~54）岁，其中急性淋巴细胞型（简称急淋）10例，急性非淋巴细胞型（简称非急淋）14例，包括急性粒细胞型8例、急性红白血病3例、急性单核细胞型2例、慢性粒细胞白血病（简称慢粒）急变1例、慢粒3例，慢性淋巴细胞白血病（简称慢淋）1例。以上病例的特点是：1.均经骨髓细胞学、细胞化学及有关血液学方法确诊；2.均选择初治病例；3.部分病例化疗后进行复查；4.均未发现肝肾功能损害。

二、方法：本组病例均采用琼脂电泳法，操作程序是：制备琼脂板、加样、电泳分离、准确显示同功酶，然后进行扫描定量（北京生化仪器厂DGS—I型光密度扫描仪）。

结 果

正常人、不同类型白血病人及其他血液病人血清LDH总活力及同功酶含量见表。

表一 不同类型白血病人血清LDH测定结果

	例 数	LDH总活力 (单位/升)	同 功 酶 活 力 %				
			1	2	3	4	5
正 常 人	30	242 ± 75	33 ± 5	40 ± 3	19 ± 6	5 ± 4	1.9 ± 1
白血病人	28	472 ± 269	37 ± 12	42 ± 8	13 ± 6	3.9 ± 3	0.8 ± 0.7
急 淋	10	477 ± 196	36.9 ± 8	45 ± 11	14 ± 6	3.7 ± 3	0
非 急 淋	14	421 ± 789	42 ± 12	40 ± 6	13 ± 7	3.6 ± 3	9.6
慢 粒	3	640 ± 470	33 ± 7	43 ± 3	15 ± 4	8.0 ± 3	2.6
慢 淋	1	240	57.6	38.4	3.8	0	0
其他血液病	15	320 ± 107					

上表可见急性白血病及慢粒血清LDH均升高与正常人比较显著差异（ $P < 0.001$ ），急淋较非急淋升高，本组病例中1例慢粒急变后LDH高达1180单位。LDH同功酶，正常人是 $LDH_2 > 1 > 3 > 4 > 5$ ，而急淋和1例慢淋是 $LDH_1 > LDH_2$ 。LDH₁与正常人比较显著升高。急淋和非急淋LDH总活力与外周血幼稚细胞计数关系呈正相关。

本组急性白血病外周血发现幼稚细胞者20例，随幼稚细胞增多，LDH总活力逐渐升高。

10例白血病在化疗诱导前后均测定了LDH，治疗前平均 540 ± 191 ，其中8例治疗后缓解者是平均 355 ± 170 ，有差异（ $0.05 > P > 0.01$ ）。

讨 论

乳酸脱氢酶存在于许多细胞系统, 由于组织或细胞损伤可使血清 LDH 水平升高, 人或动物发生肿瘤时, 如白血病和淋巴瘤血清LDH亦升高⁽¹⁻³⁾。本文测定了28例不同类型白血病人血清LDH总活力均升高, 与正常人及其它血液病人比较有显著差异 ($P < 0.001$), 其中以急淋与非急淋比较, 前者升高明显, Kornberg(1980年等)⁽⁴⁾测定了42例不同类型白血病人血清LDH总活力, 其中急淋19例, 血清LDH总活力均数 1.669 ± 1.038 单位/升, 非急淋23例, $LDH 413 \pm 146$ 单位/升, 两组病例比较有显著差异, 与本文结果相似, LDH同功酶测定结果是非淋巴细胞型白血病 $LDH_1 > LDH_2$, 可见非急淋 LDH 升高主要表现为 LDH_1 升高。Rebin-owitz⁽⁵⁾测定了7例正常人淋巴细胞中 LDH 同功酶, 其顺序是 $LDH_2 > 3 > 1 > 4 > 5$, 11例慢淋白血病细胞中 $LDH_3 > 2 > 1 > 4 > 5$, 该氏同时测定了9例正常人粒细胞中 $LDH_3 > 5 > 4 > 2 > 1$, 7例慢粒白血病细胞 $LDH_3 > 5 > 2 > 4 > 1$, 本文测定血清LDH同功酶结果与如上结果不符。Jacobs-on等⁽⁶⁾对肿瘤时血浆LDH升高的原因进行了探讨, 测定了鼠和正常人及肿瘤病人肝、脾、白细胞、肌肉、脑组织中LDH含量, 并推测血清LDH可能来自肌肉、骨髓、肿瘤转移及正常细胞破坏, 但认为血浆LDH升高最大可能是肿瘤细胞破坏, 将 LDH 释放至血液中, 其测定正常及白血病肝脾中LDH活力如下:

表二 正常人和白血病人器官LDH活力

		单位/毫克蛋白	单位/毫克新鲜重
脾	正 常	797 ± 104	55 ± 12
	白 血 病	$1,368 \pm 104$	108 ± 12
肝	正 常	$2,318 \pm 437$	208 ± 35
	白 血 病	$2,078 \pm 437$	155 ± 35

血清LDH的活力与外周血中幼稚细胞数量有关, 本文分析了不同幼稚细胞计数时LDH总活力, 两者呈正相关, 与文献(3)报告符合。本组病例的研究结果证明, 不同类型白血病时血清LDH总活力显著升高, 白血病类型不同LDH同功酶的改变有所不同。随病情好转LDH活力降低, 是否可作为急性白血病治疗情况的判断标准尚待进一步证实。

中枢神经系统白血病的诊断问题

西安市血液研究所 原青均 胡 凯

50年代以后,随着新的有效的抗白血病化疗药物陆续发现。临床医生已能采用不断改革的联合化疗方案和有力的辅助支持疗法。急性淋巴细胞白血病和急性非淋巴细胞白血病治疗的完全缓解率已分别达到80—98%及60—80%。患者的缓解期及存活时间也显著延长,存活5年以上的百分率日益增高,甚至有存活20年以上的报告。但是,与此同时,中枢神经系统白血病损害的病例却较前明显增多,日益引起临床工作者的注意。中枢神经系统的白血病病变往往又是白血病复发的根源,甚至可以直接影响患者的生命。近年来对中枢神经系统白血病的诊断,治疗的研究已成为学者们研究的中心问题之一。

1978年全国白血病防治协作会议上,就曾把中枢神经系统白血病作为一个中心议题,为中枢神经系统白血病拟出了诊断标准草案。我所近一年多来临床观察,认为在标准草案的基础上应考虑把脑脊液内白血病细胞的检出作为主要诊断依据。是否恰当,仅提供讨论。

发病及发病率

中枢神经系统白血病发病逐渐增长的趋势,不同作者,在不同地区已有很多报告。例如在1938年Forkner还认为“中枢神经系统白血病无疑是一种少见病变”。而自1947年以后,则有成倍的增加。如Evans等⁽²⁾,对921例儿童急性白血病患者经过14年(1947—1960年)以上的观察。发生脑膜白血病者1947—1953年在8%以下,1954—1956年为17—19%,1957—1960年为30—40%。1963—1964年又对209例患者观察,脑膜白血病发病率为51%。同时随着存活期的延长,缓解后中枢神经系统的发病机率亦增多。近年来采用不断改进的联合化疗方案及辅助支持疗法后,患者完全缓解率提高,医务人员也随之加深了对本病的认识,提高了警惕性。诊断方法不断改进,临床诊断率逐渐接近客观发病率,也可能是发病率增高的因素之一。

据Illeyer最近报导⁽¹⁾对39例急性粒细胞白血病患者研究发现:新入院患者常规进行脑脊液检查,其中7例患者脑脊液发现母细胞。这7例患者全部为急性粒单细胞型白血病,没有其它类型。可见中枢神经系统白血病发生的早晚与细胞类型有一定关系。同时还发现中枢神经系统白血病患者有血清溶菌酶水平升高,血液白细胞计数较高,患者年龄较小,脾肿大或其它器官受浸润现象等特点。而且脑脊液发现幼稚细胞者予后不良,存活时间短。由此认为:对每一例新入院病人均应常规进行脑脊液检查。

据国内近年来不完全统计:22个单位所报告的2505例急性白血病患者中〔2—6〕

(8—11)(13—15)(17—24)(26—27), 发生中枢神经系统白血病者共402例, 总发病率为16.0%。其中发病率最低者为2.1%(13), 最高者为62.2%(10)。国内病理解剖资料报告(7)(12)(25)在223例急性白血病患者中, 发现中枢神经系统白血病样损害者占111例, 发病率为49.8%。这些结果的差异, 除上述原因外, 病例的数量, 诊断标准及诊断手段的不同也是一个重要的因素。因此, 为使临床诊断率尽可能地与实际发病率相接近, 逐渐完善诊断标准, 不断改进诊断手段仍然是一个重要课题。

病 理 变 化

白血病细胞侵入中枢神经系统的途径, 报告中看法各不相同。有的学者认为(30): 原来存在于蛛网膜静脉壁的具有造血能力的未分化的生发细胞, 由于引起白血病的某种因素的作用而发生恶性变, 从而发展成中枢神经系统白血病。而另有学者认为(28): 脑内病变系因循环血液中的白血病细胞经由脑内毛细血管壁进入组织所致。还有的学者认为(34): 脑内白血病细胞的来源很可能是多方面的, 既可以从血内白细胞而来, 也可能从局部血管的多能性结缔组织演变而来。1970年mostranglo(32)通过对染色体的观察证明白血病细胞是由血管转移而入。

中枢神经系统白血病的病理改变和侵犯的部位非常不一致, 因之临床表现也就互不相同。在病理改变的性质方面可以有白血病细胞浸润性病变, 有组织坏死, 有胶质细胞增生, 亦可有出血性病变或感染性病变发生。病变可以非常明显, 形成广泛性病变, 也可小到只有显微镜下才能看到。在侵犯的部位方面, 由大脑半球到小脑, 以至脊髓, 颅神经, 脑膜无处不可受侵。Leidler和Riissell(31)对67例中枢神经系统白血病的病理改变进行分析时发现, 发生大脑半球改变者占61%, 基底节改变者占46%脑干占31%小脑占28%。在前述报告中虽认为对脊髓膜及脊髓的侵犯较少, 但在其它报告中, 对垂体, 颅神经, 甚至脑脊膜, 神经根, 结等侵犯的报告亦不鲜见。

临 床 表 现

中枢神经系统白血病的临床表现多不相同, 在我所收治病人中即有以尿崩症, 精神症状或昏迷为首发症状者, 且缺乏特征性表现。部分患者在早期还可无临床症状, 因此要求临床工作者对本病十分熟悉, 保持足移的警惕性。

由于本病主要病变常为脑实质及脑膜的浸润, 致使脑水肿, 脑肿胀, 脑脊液循环障碍, 颅内压增高。因之常表现为头痛, 恶心、呕吐, 视力模糊, 视乳头水肿等。心动徐缓, 呼吸不规则, 嗜睡、抽搐、脑膜刺激征则并不多见。颅神经最常受损害者为面神经(Ⅵ), 其次为动眼(Ⅲ)滑车(Ⅳ)外展(Ⅵ)神经等损伤, 亦有影响视(Ⅰ)及听(Ⅷ)神经的。表现为口角歪斜, 眼睑下垂, 眼球震颤, 瞳孔对光反射迟钝, 羞明、复视, 视力模糊等。少数视丘下部受损则可出现多尿, 贪食, 体重骤增, 肥胖等下丘脑综合征, 也有因侵犯脑垂体而发生尿崩症者。

脊髓运动系受累时, 患者下肢无力, 走路困难, 甚至出现共济失调, 震颤、痉挛、

麻痹等。如感觉系统受损,出现躯干部,肢体痛疼及麻木等感觉异常。

由于中枢神经系统白血病的病理改变复杂多样,临床症状又变化多端,无特异性。因此对临床上任何神经系统的症状和体征均应认真对待,首先要想到中枢神经系统白血病存在的可能,并加以认真鉴别。

诊断及鉴别诊断

我国1978年在南宁召开的全国白血病防治研究协作会议上提出中枢神经系统白血病诊断标准草案,草案规定中枢神经系统白血病应具备以下条件:

一、有CNS的症状和体征(尤其颅内压增高的症状和体征)。

二、脑脊髓液(CSF)的改变:

1.压力增高,大于200毫米水柱(或大于60滴/分),

2.白细胞数 >10 个/ mm^3 ,

3.涂片检到白血病细胞,

4.蛋白 >45 毫克%或潘氏试验阳性。

三、排除其它原因造成CNS的相似改变。

附 注

1.CSF有上列1—2项异常,即可符合诊断要求。

2.无症状但有CSF改变,可诊断为CNS白血病。但如只有单项CSF压力增高,暂不作为CNS白血病的诊断依据,应严密观察其动态改变。

3.有症状而无CSF改变者、如有颅神经、脊髓或神经根及周围神经受累的症状和体征,可排除其它原因所致,且经抗CNS白血病治疗症状有明显改善者,可诊断为CNS白血病。如仅有头痛,一般不作CNS白血病的诊断,但应予密切观察,积极排除其它因素所致头痛。

4.有条件的单位可探索脑电图对CNS白血病的诊断意义,但暂不作为诊断依据。

在我们的临床实践中。曾根据草案标准对中枢神经系统白血病的患者进行诊断,多数病人应用这一标准还是合适的,但也有一些患者,沿用这一标准定临床诊断并不一定准确。如有些病人有头痛,颈部不适表现,又有脑脊液压力增高或蛋白稍高现象,临床上未予治疗可于短期内恢复正常。随访观察也并未发展成中枢神经系统白血病。

我所79—80年,对住院27例急性白血病患者的观察中,在17例并非中枢神经系统白血病的患者中,即有5例患者病程中出现脑脊液压力 $>200\text{mmHg}$ 和/或蛋白稍高于正常。因其它临床表现不支持,未按中枢神经系统白血病处理,至今病程最长已21个月,最短3个月未发生中枢神经系统白血病。

脑脊液在中枢神经系统内起淋巴液的作用,为脑细胞代谢提供适宜的环境,有营养脑细胞的功能,并带走代谢产生的废物。脑脊液充满蛛网膜下腔,可使脑免受振荡,又能调整颅内的压力。中枢神经系统发生病变,尤其是直接与脑脊液相接触部分的病变往