

中华医学会安徽分会内科学会

出席全国血液学学术会议论文集

1964年3月15日

安徽 合肥

慢性粒細胞型白血病的 細胞遗传学观察

安徽省立医院内科 李广溥 郑董基 王祖贻

在慢性粒細胞型白血病人¹的血細胞培养中，於1960年首先由 Nowell 氏等⁽¹⁾注意到有不正常的染色体存在。他们观察染色体数目虽然正常，而却在 Denver 国际系统分类的第21—22组中有一较正常为小的、奥近端着丝点的微小染色体存在。其后由 Baikie、Tough、Adams、Kinloch、Fitzgerald Sandberg 等氏均先后证实了这种异常染色体。英国爱丁堡学者 Tough 氏等⁽²⁾并为此异常染色体订名为 ph¹ 染色体，以纪念首先发现这一异常染色体的所在地区——美国费城 (Philadelphia)。我们最近对三例慢性粒細胞型白血病人¹的骨髓細胞进行了染色体方面的观察，基本上符合国外报导所见，现将观察结果报导于下。

技术方法

对白血病細胞染色体的检查方法，基本上有两种。一种是利用血或骨髓細胞进行培养，一种是采取新鲜骨髓細胞、不用培养方法而立即在低张溶液^註中扩张、固定、染色和直接压片制成标本。后一方法目前认为^註更有效地反映白血病造血組織在机体中的細胞遗传学特征（理由后述），而且手续尚称简便，所以我们主要采取了后一方法。

我们所用的方法是 Sandberg 氏⁽³⁾的“骨髓細胞直接压片法”经过稍加修改而成。具体步骤如下、

- 1、在无菌手續及局麻下于肠骨前上棘穿刺抽取骨髓液1—2毫升^{将骨髓细胞混悬于10毫升}冷的、含有0.6%葡萄糖的0.7%盐水中，（内尚含有 *disodium EDTA* 0.18 克/1000 毫升，以抗凝並起利秋水仙素样作用）。
- 2、将上述细胞混悬液以1：5比例稀释於0.44%枸橼酸钠溶液中，令细胞在此低张溶液内于37°C下作用15分钟，以促膨胀。
- 3、将上述溶液以1000转/分离心沉淀约3—5分钟，使白细胞压缩，吸去上清液。
- 4、在不扰动沉淀物情况下加入1：3的冰醋酸酒精约5毫升将上述压缩的白细胞固定30分钟。
- 5、吸去固定液，再加入冷的50%醋酸5毫升，置冰箱内至少固定2小时，亦可置过夜，至翌日再进行下一步骤。
- 6、吸去上层醋酸液，用巴氏吸管加入适量的2%地衣红（溶于65%醋酸的）染液（染液用前过滤），以使染液中细胞不过浓或过稀为度，一般约加染液1/3—1/2—1毫升视细胞多少而定。加入染液后须用巴氏吸管反复吹吸混和数次，至少放置10分钟以上。
- 7、将一滴染过的细胞悬液滴在干净的玻片上，加上盖玻片，用吸水纸吸去盖玻片四周多余的染液。
- 8、用吸水纸拭镜纸覆于盖玻片上，用姆指径拭上向盖玻片施加一定压力，约持续30秒左右，庶使细胞染色体扩散开。盖玻片周围可用蜂蜡封闭，标本在冰箱里可储一周左右仍可适于观察。
- 9、观察方法。

压片标本制就后，我们一般是置在摄影显微镜下用绿色滤镜先在高倍镜下寻找适当的分裂中期的细胞，必须染色

体散开在同一水平面上，没有明显的染色体数目缺少时始换油镜头以35毫米电影胶片摄影（放大1000倍）。

对每个细胞染色体的计数一般是在特制的放大镜观片灯下观察冲洗后的胶片上进行的。Ph¹染色体一般可以从胶片上直接看出（在压片良好的染色体标本上即使是在高倍镜下也可直接认出）。除去不适于观察的细胞外，将每个细胞的染色体数目分别记载，并注明有、无或可疑Ph¹染色体存在。

Ph¹染色体为四个最小的近端染色体（男性者另加一个Y染色体）中的一个异常小的染色体，即它是属于Denver国际系统分类中的第21或第22对中的一个。在女性病人一般观察Ph¹并不困难，但在个别男性病人中须注意与Y染色体之鉴别，其鉴别点（3）为：Y稍长，无随体，短臂与长臂的长度的比值较小。

至于染色体组型分析的手续，係将上述胶片再放大冲洗后，根据Denver国际系统兼Patau氏分类，按染色体大小及着丝点位置，依次排列剪贴而成。

结 果

对三例典型的慢性粒细胞型白血病人，按上述方法进行了检查。其中二例男性患者均经服马利兰治疗过，一例女性患者也曾经马利兰治疗，且在检查时病情正处于急性变期，近期又接过6-mp和秋水仙素治疗。患者的有关治疗及血液学资料见表1。三例患者的染色体计数和观察到Ph¹的结果见表2。三例患者的染色体模式均为46，如图1及2所示。超过46个染色体的细胞仅偶见，而少于46个染色体的细胞出现频率似较多，我们认为这可能是由于压片时染色体逸落所造成的人工伪差所致，

这种现象尚不够符合诊断嵌合体的条件。

ph' 染色体在三例病人中如图三所示。其出现的频率分别为 64.5%、81.5% 和 53.6%。三例病人总共检查了 99 个分裂中期细胞的核型，共 ph' 微小染色体有 64 个，ph' 的平均出现率占 64.6%。

讨 论

ph' 染色体的形成机制问题：按 ph' 微小染色体的形态特征目前一般学者 (2) 推测它是由四个近端着丝点的最短染色体（即 G 组中或 21—22 组中）的一个衍生而来。可能是由此等短染色体中的一个在其长臂上缺失一部分染色体物质所致，也可能是累及此近端染色体与另一个异源染色体之间的相互移位所致。上述推论是比较合理的，但尚不能证实。

ph' 染色体与慢性粒细胞型白血病的关系：在慢性粒细胞型白血病病人的血液和骨髓中，屡能发现 ph' 染色体已为各学者所先后证明，但在正常人和其他类型的骨髓组织增生性疾病中却不可发现其存在 (1) (2) (3)，因此提示该异常染色体确实是与慢性粒细胞型白血病相伴存在的。多数作者认为具有 ph' 染色体的血细胞可视为异常的白血病细胞。它究竟是该病的病因抑係其结果尚不清楚，但似可认为它至少可以代表慢性粒细胞型白血病细胞的细胞遗传学的非特异性变化，是一种肿瘤细胞的标志。该种异常的微小染色体在慢性粒细胞型白血病病人的皮肤组织细胞中却不能发现 (4)。

ph' 染色体出现的频率：ph' 在慢性粒细胞型白血病病人中及其在该种病人的血液和骨髓细胞中出现频率的高低，各家报导不一。一般认为可能与应用的技术方法、患者治疗与否以及病情

是否在急性变期等因素有关。Sandberg 氏⁽³⁾应用新鲜骨髓直接压片法，可使慢性粒细胞型白血病骨髓细胞中分裂中期的 ph^1 出现率达到 75% 以上。而同时在周围血培养中检查 ph^1 的出现率仅在 35% 以下。骨髓直接压片中 ph^1 出现率高于血培养的尾因，他们推测可能是白血病细胞在培养条件下不反正常白细胞在同样条件下易于繁殖分裂之故。他并且认为不论用何种技术方法检查 ph^1 ，均不受治疗和病情急性变的影响，本文三例应用骨髓直接压片法检查 ph^1 的出现率为 64.6%，似较 Sandberg 氏稍低。三例先后均经过化学药物治疗，其中一例又处于病情急性变期，似均未影响 ph^1 之检出，这种结果基本上与 Sandberg 氏等相符，而与早期一些作者^{(2) (4)} 认为 ph^1 之出现频率可能受治疗或急性变的影响的看法似有不同。

结 论

本文报告利用新鲜骨髓细胞直接压片法，对三例慢性粒细胞型白血病患者检查分裂中期白细胞的染色体组型，有假二倍体出现。其染色体模数虽为 46，而在 G 21—22 组内可见一异常的、微小染色体存在，该异常染色体国际上已统称为 ph^1 。在三例患者 39 个分裂中期的骨髓细胞中，有 64 个具有异常的 ph^1 染色体，其出现频率为 64.6%。此外并讨论了 ph^1 的形成机制和影响其出现频率的可能因素。认为利用新鲜骨髓直接压片法在血液学上检查白血病染色体结构，能比较真实地反映白细胞在机体内的自然状态。

本文摄影工作承向广文、陈其厚两位医师协助，特致谢意。

[illegible]

表2

三例慢性粒细胞型白血病患者
染色体计数和 ph' 观察结果

病例号	染色体计数							有 ph'	无 ph'	可疑 ph'
	<44	44	45	46	47	≥48	总计			
1	7	1	4	18	1	0	31	20 (64.5%)	5	6
2	5	4	3	27	0	2	41	22 (53.6%)	6	13
3	5	2	2	17	1	0	27	22 (64.6%)	3	2
合 计	17	7	9	62	2	2	99	64 (64.6%)	14	21

附：图1，显示在例3的骨髓直接压片标本中，箭头所指为 ph' 染色体。

图2，为图1同一细胞的染色体组型，注意在G24中有一异常的微小染色体，即 ph' 。

图3，显示三例慢性粒细胞型白血病患者G组（21—22组）中异常染色体 ph' 的情况。

参考文献

- (1) Nowell, P. C. Hungerford, D. A.: Chromosome studies on Normal and Leukemic Human Leucocytes, *J Nat. Cancer Inst.*, 25:85, 1960.
- (2) Tough, J. M., Court-Brown, W. M., Baikie, A. G., Buckton, H. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., King, M. J. and McBride, J. A.: Cytogenetic studies in Chronic Myeloid Leukemia and Acute Leukemia Associated with Mongolism *Lancet*, 1:411, 1961.
- (3) Sanberg, A. A., Ishihara, T., Crosswhite, L. H., and Hauckha, J. S.: Comparison of Chromosome Constitution in Chronic Myelocytic Leukemia and Other Myeloproliferative Disorders, *Blood*, 20:393, 1962.
- (4) Baikie, A. G., Court-Brown, W. M., Buckton, H. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A. and Tough, J. M.: A possible specific chromosome abnormality in Human Chronic myeloid Leukemia, *Nature, London*, 188:1165, 1960.

骨髓浆细胞增多症——附8例报告

安徽医学院内科教研室

欧克仁

浆细胞属于网状内皮细胞系统，在正常情况下，存在于骨髓、脾、淋巴组织中及全身血管周围，而不存在于外周血中。一般认为它是抗体球蛋白的制造者。这要上溯到 Magnus-Lery (1933) Bing 及 Plum (1937) Rohr (1938) 及 Fleischhacker (1940) 氏等，他们从临床观察发现血浆球蛋白水平与骨髓中浆细胞数量之间有明确的关系。北欧的 Bjorneboe (1941—1947) 及 Gormsen 及 Fagraeus (1946—1951) 氏等并从实验加以阐明，前者发现家兔在注射抗原3—5天后，脾中浆细胞过度增生，第7天起，在富于浆细胞的组织（如肾周脂肪组织）中可证明抗体含量非常高，后者观察到在培养物中形成的抗体的量与出现于培养物中的浆细胞（特别是幼稚浆细胞）的数量成正比。Kolouch (1938) 氏则看到免疫后淋巴组织中首先浆细胞增多。Coan 氏及其同工用荧光素异氰酸盐标记抗原注射于免疫动物中，相应的荧光大体上发现于浆细胞中。Ehrlich 氏及其他人证明浆细胞在浆中非常富于核糖核蛋白，并可证明两种球蛋白。形态学上，Stobbe 氏认为浆细胞的核远心性地位置的特征和分泌性腺细胞相似（Undritz (1938) 曾把浆细胞比拟为腺细胞），骨髓细胞中只有成骨细胞才是这样的。又浆细胞的 Russell 小体被认为代表分泌的糖蛋白产物，或被看作蛋白分泌障碍的表现。

其反面的证据为丙种球蛋白血症时骨髓中浆细胞缺如，或高度减少，新生儿在首3月中不能证明浆细胞，也无抗体形成。这些都说明浆细胞是丙种球蛋白的前体。

由此可见，浆细胞与免疫过程，特别是丙种球蛋白的产生有

密切关系。但它的增多在临床上的实际意义究竟有多大，还值得探讨。国内关于这方面的材料似不多见。现根据我们的少数材料未能加以探讨。

材料及方法

过去两年中，我们在500例（700份标本）骨髓涂片检查中曾发现8例反应性浆细胞增多症，其诊断标准系根据Berlin氏等以1.8%为正常上界，超过此数为增多。如同一患者骨髓检查不止一次，则取浆细胞%最高的一次为依据。由于浆细胞在涂片上的分布有在羽状末端以单个或成群聚集的倾向，所以采取从端到端的计数方法，以取得较可靠的浆细胞%。每例计数2000个骨髓细胞，由作者担任计数及分类，涂片用瑞氏染色法，每一例同时记录最高一次血浆蛋白^球含量，以作对比，并以3克%以上为升高。

多发性骨髓瘤及再生障碍性贫血病例虽骨髓中浆细胞亦明显增多，但以其不是反应性浆细胞增多症性质，前者的浆细胞形态学也不同，故不包括在本文范围内。

结 果

计数所得8例反应性浆细胞增多症的临床资料列简表如下（照片省去）：

8 例骨髓浆细胞增多症临床资料

病例	性别	年龄	诊 断	骨髓增生程度	骨髓浆细胞 (%)					血浆蛋白 (%)		
					幼稚	成熟	二核	三核	Russell 小体	合计	白蛋白	球蛋白
1	男	32	脓亢病(磷症何种)支气管扩张肺结核*	明显活跃	1.15	4.60	0.05	0.05		5.85	2.7	5.5
2	男	25	急性白血病 (可能淋巴瘤型)	"	0.25	4.65	0.05	0.05		5.00	1.7	3.8
3	女	45	风湿性心脏病、梅毒性主动脉炎	"	0.60	2.60	0.10			3.30	3.2	3.0
4	男	30	网状细胞增多症 [△]	减低	0.20	2.60	0.10			2.90	2.1	3.0
5	男	34	门脉性肝硬化	活跃	0.10	2.00	0.10			2.20	4.0	2.8
6	女	36	胆石症合并胆道感染早期胆汁性肝硬化	"		1.85	0.05		0.05	1.95	3.2	4.6
7	女	52	风湿性心脏病脾肿大(原因未肯定)	明显活跃	0.10	1.75				1.85	2.3	4.5
8	女	54	慢性肝炎钩虫感染继发性贫血	"	0.15	1.65	0.05			1.85	2.8	2.6

讨 论

一、骨髓像中浆细胞的正常值：要决定有没有骨髓浆细胞增多症，首先要确定骨髓像中浆细胞的正常值。据国内已发表的资料，一般不超过1.0%，而很少超过1.5% Berlin 氏等以1.8%为正常上界，我们认为这是恰当的，因即采用，如超过1.8%即为病理的，即为增多。Sandberg 氏等以超过2.5%为不正常，我们认为超过2.5%的机会很少，可看作明显增多。

二、骨髓浆细胞增多而血浆球蛋白不相应升高的问题

本文8例骨髓象中浆细胞数都超过规定的1.8%，可认为增多。其中4例在2.5%以上，符合显著增多的标准。它们血浆球蛋白含量超过规定的3.5%者仅4例，其余4例则在3克%或以下。如以浆细胞%从高到低排列，以与血浆球蛋白含量作对比（见表）则发现两者在数量关系上并不一致。相反不少病例球蛋白升高，但浆细胞%却不增多（未列在表上），这种矛盾现象早已为学者们所注意，其解释可归纳为以下几点：

1) 骨髓检查仅遇到身体中存在的浆细胞的一部分，不能代表全体。

2) 骨髓涂片上浆细胞分佈不均，以羽状末端为多，如不注意此点，则计数所得不可靠。

3) 存在着还不了解的过渡型。

4) 浆细胞功能不足（是质而非量的问题）。

5) 浆细胞（如在癌症骨髓中者）制造的丙种球蛋白其转变比正常者快。实验证明：肿瘤组织更活泼地摄取丙种球蛋白及其他血浆蛋白质。

6) 球蛋白的测定的技术上的困难（误差）。

我们8例的这种不一致现象也完全可用以上的理由来说明。

三、骨髓浆细胞增多症的临床意义。

8例的临床诊断为肢无病，急性白血病，风湿性心脏病，网状细胞增多症、肝硬化及慢性肝炎等，这些都可认为免疫性疾病或网状内皮系统增殖性疾病，浆细胞增多乃至球蛋白升高是可以理解的。文献上如Good氏曾观察到急性风湿热儿童及链球菌咽喉炎患者骨髓中浆细胞常有规律地增多，在风湿静止期则浆细胞增多症消失。本文例了及例6的风湿病也可能是活动的，所以浆细胞增多。又如Jarrod及Viller两氏报告在Laennec氏肝硬化及传染性肝炎看到骨髓浆细胞增多症。Berlin氏等报告在肢无病看到，我们也在这些病的骨髓象中看到增多。此外，它还见于癌瘤，血清病，鼠蹊淋巴肉芽肿，慢性骨髓炎，肺结核，先天性梅毒，类风湿性关节炎，肾炎，支气管喘息，Boeck氏类肉瘤，支气管扩张及粒细胞缺乏症等多种疾病中。Clark氏把发见浆细胞增多症的疾病归纳为5类，即①对药物及某些抗原的过敏性②肢无病，③疟疾、慢性疟疾，特别是肉芽肿性④肝硬化及⑤播散型红斑狼疮，从上述可看到这些疾病都与免疫特别是自体免疫有关。所以Baruach认为浆细胞性反应是循环血中抗原的系统免疫反应的形态学表现，可作为免疫变化已发生的指针。

骨髓浆细胞增多症不常见（再生障碍性贫血时为例外），我们在500例骨髓检查中只发见8例，仅占1.6%，故为了发见或证实有无免疫过程或是否免疫性疾病而检查骨髓，计数浆细胞非常多是徒劳的，不可靠的。但另一方面，如果在骨髓检查中发见了浆细胞增多症，则其意义正如上述Baruach氏所指出的那样，可对发病机制（免疫反应）起指示作用，提供诊断线索及治疗方向，在临床上尚有一定的价值。

小 结

报告病例反应性骨髓浆细胞增多症，结合文献讨论了，浆细胞的正常值，浆细胞增多而血浆球蛋白不相应升高的问题及浆细胞增多症的临床意义，认为它可对发病机制（免疫反应）起指示作用，提供诊断线索及治疗方向，在临床上尚有一定的价值。

参考文献（略）

流行性出血热54例的出血机制观察

安徽省立医院内科 李广溥 张明水

流行性出血热的临床表现主要以发热、出血及肾脏损害为主，不论在临床或病理解剖上均可毫无例外地见到程度轻重不一的出血倾向。有时甚至出血可成为死亡的主要原因。因此对该病的出血机制方面，有加以探讨的必要。

资料来源及方法

1961年12月下旬至1962年元月中旬，在某地一次流行性出血热的爆发流行期间，在一个病员集中的收治点上，对临床确诊为不同病期的流行性出血热54例的出血机制，进行了某些方面的观察。检验方法包括：(1)出血时间(Duke氏法)；(2)血小板直接计数(许文和氏法)；(3)血浆凝血酶元时间测定(Quick氏一期法)；以凝血酶元含量的百分比表示。(3)

(凝血酶元含量的百分比 = $\frac{\text{健康人的凝血酶元时间}}{\text{病人的凝血酶元时间}} \times 100$)

；(4)第五因子活动度(Stefanini氏法)；⁽¹⁾ (5)第七因子活动度(Horn-Koracs-Altemann三氏法)⁽¹⁾；(6)血清剩余凝血酶元消耗试验(改良的Soulier氏法)⁽¹⁾；(7)血浆复钙凝结时间⁽¹⁾；(8)纤维蛋白元乙试验⁽¹⁾；(9)抗凝物质检查；(10)束臂试验；(11)在左手中指甲床根部皮肤用毛细血管镜检查毛细血管襻的抗触。技术操作均係作者之一进行，每次检查时均抽正常人血作对照。

结 果

一、在检查50例止血时间中，有15例延长。在54例中，其凝血酶元含量的百分比显示减低者17例，第五因子活动度减低者17例，第七因子活动度减低者8例，凝血酶元消耗不佳者6例，血浆复钙凝结时间延长者4例。在检查27例的纤维旦白元乙试验中有1例阳性。在4例血浆复钙凝结时间延长的患者中用正常^血浆进行纠正试验，结果有3例不能纠正，但经鱼精旦白中和后血浆复钙凝结时间恢复正常，故推测有肝素类抗凝物质存在。在19例束臂试验中，有9例异常。用毛细血管镜检查中有6例显示毛细血管扩张、毛细血管^{的反应}的异常迂曲或对刺激不良。对54例处于不同病期的患者，同上述试验方法的检查结果见表1。

二、在上述试验方法中往々同一患者可同时具有数项异常，54例中发现有凝血及止血机制缺损者共34例（占63.0%），此种异常在疾病的各期均有发现，但以低血压期和少尿期最为明显和普遍，而临床上的止血倾向亦以此二期为最严重和最普遍，见表2。

讨 论

一、由表1可看出，本文报告的54例止血病患者，的各项止血及凝血机制检查中，以毛细血管形态，机能的缺损及束臂试验阳性为显著，分别占66.7%及47.3%。这种改变，在病程经过中以低血压期和少尿期最为明显。因此推测毛细血管中毒损害，使其通透性和脆性增加是引起止血，血浆渗出等病理现象的主要原因。