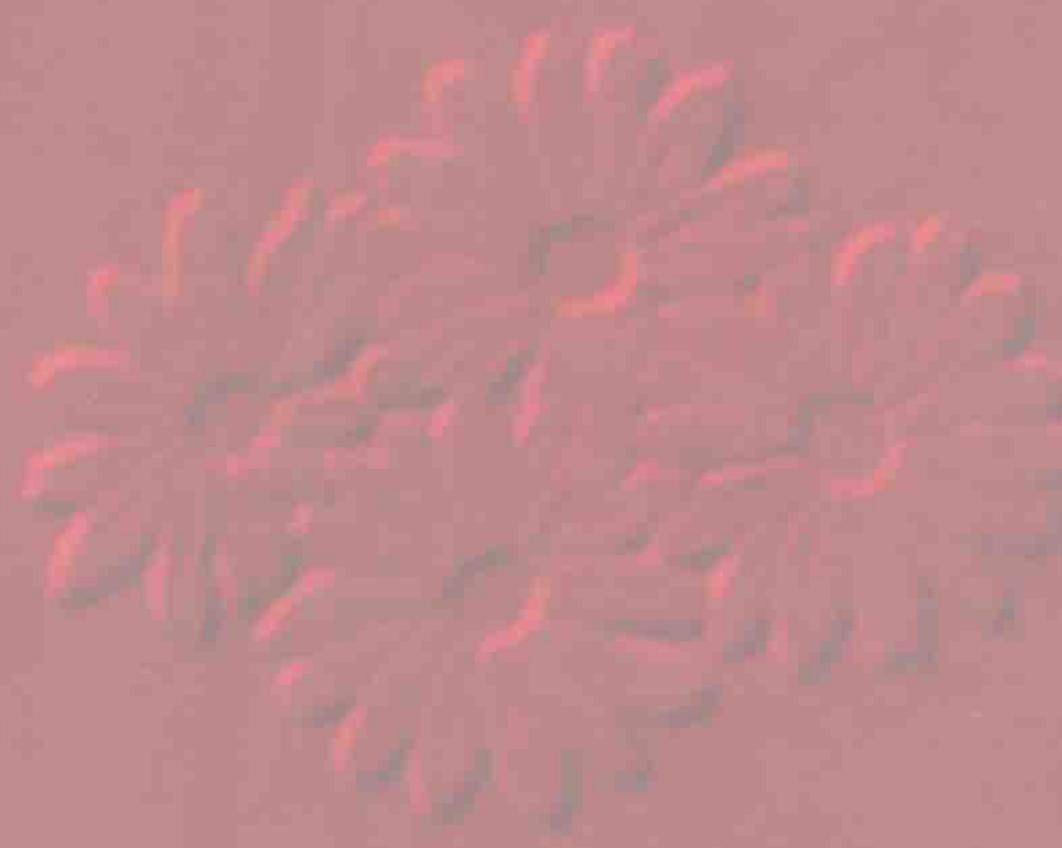


上海普通高校“九五”重点教材

# 现代血液学检验与临床实践

主编 胡翊群 王鸿利 熊树民 丛玉隆



上海科学技术文献出版社

上海普通高校“九五”重点教材

# 现代血液学检验与临床实践

上海市教育委员会 组编

胡翊群 王鸿利 主 编  
熊树民 丛玉隆

上海科学技术文献出版社

责任编辑：张科意

封面设计：石亦义

上海普通高校“九五”重点教材

现代血液学检验与临床实践

上海市教育委员会 组编

胡翊群 王鸿利 熊树民 丛玉隆 主编

\*

上海科学技术文献出版社出版发行

(上海市武康路2号 邮政编码 200031)

全国新华书店经销

上海科技文献出版社昆山联营厂印刷

\*

开本 787×1092 1/16 印张 13 字数 324 000

1999年4月第1版 1999年10月第2次印刷

印数：2 001—5 100

ISBN 7-5439-1303-8/R·352

定价：26.00元

《科技新书目》481-593

## 《现代检验医学与临床实践》编委会

### 主 编

王鸿利 朱明德 赵月林

### 主 审

陶义训 罗邦尧

### 编 委 (以姓氏笔画为序)

王鸿利	丛玉隆	许以平	李定国	朱明德
巫向前	陈赛娟	沈 霞	金大鸣	罗邦尧
郑 捷	赵月林	洪秀华	姜昌斌	姚 建
胡晓波	胡翊群	陶义训	倪语星	熊立凡
熊树民	樊绮诗			

### 第 二 分 册

## 《现代血液学检验与临床实践》

### 主 编

胡翊群 王鸿利 熊树民 丛玉隆

### 编 写 (以姓氏笔画为序)

王志华	王学锋	王鸿利	牛 超	邓新立
丛玉隆	李 健	李锦阳	杜心垓	张 梅
胡翊群	焦洁茹	熊树民		

# 前 言

《现代血液学检验与临床实践》是由上海市教育委员会和上海第二医科大学组织编写的上海普通高校“九五”重点教材——《现代检验医学与临床实践》丛书的第二分册,整套丛书共有六个分册。

本分册共分四章,以血液学检验为线索,以临床常见的血液疾病和症状为主线,综合了国内外对血液学基础理论、实验手段、临床应用的最新评述,从理论基础、检验项目和临床实践三方面展开叙述,内容包括:造血细胞、器官病变的血液形态学和血管及血液成分异常改变的止血领域。本书突出“新颖”和“实用”,新颖体现在医学检验与临床医学的有机结合以及临床对检验结果的评价,突出表现在对确定的再生障碍性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、骨髓增生异常综合征、骨髓纤维化等克隆性疾病演变和相关实验室检查的描述;对白血病免疫分型的应用和分子生物学分型前景的展望;补充了止血血栓基础理论和对新的止血血栓实验室指标的客观评价等方面。本书实用体现在对疾病的临床诊断和更为困难的鉴别诊断、预后判断以及进展的了解等方面,如以止血血栓分子标志物检测和实验结果积分法的应用来诊断弥散性血管内凝血前期、判断预后和指导临床治疗;解决对一些国内外广泛存在而尚无统一认识的疾病的理解和确认;通过对1990年来几十篇国内外高凝状态或血栓前状态文献的综合分析,提出了确定血栓前状态的基本条件,将血栓前状态可能导致的血栓病变化划分出三种不同的危险度,并结合筛选出的高度相关性实验室指标,对血栓前状态的防治提出了建议。考虑到这套丛书的完整性和各分册的统一性,并照顾到血液病发病机制中的某些特点,已将先天性葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症、血红蛋白病等红细胞疾病和血友病等遗传性疾病归入《现代遗传学检验与临床实践》分册;将多发性骨髓瘤等浆细胞病划入《现代免疫学检验与临床实践》分册;将类白血病反应等放在《现代一般检验与临床实践》分册;将肾综合征出血热等具明确病原体的血液病列入《现代病原学检验与临床实践》分册。

近十年来血液学基础理论研究随着实验手段的不断更新而迅速发展;而实验性很强的血液学,也越来越多地引进了各种新的检验项目或赋予基础检验以新的评价。随着基础医学和临床医学的飞速发展,各学科间的交叉、渗透不断增多,现代血液学检验以其准确、快速和组合检验为特点,将传统的检测手段提高到现代科学技术的新水平,因而对疾病诊断、疗效监测和预后判断提供的客观资料和信息比以往单一来源的检验结果更为确定、更为科学。无论临床医师或检验医师,都有必要充分认识检验的各种手段及检测结果可能存在的干扰因素;同时也有必要了解检验项目的诊断价值,以便有效地选用检验项目,这是检验医学和临床医学有机结合的新课题。

本书全面、系统地将检验医学与临床医学结合起来,这种编写形式为国内首次尝试,它的创新正是适应医学发展的形势,探索检验医学与临床医学之间有机结合的新途径,故它也可作为一种新型的教学参考书。

希望本书能够推动高等医学检验学、临床医学的学科发展。作为一种尝试,也限于作者的水平,不妥之处,恳请读者和专家提出宝贵意见,以便弥补不足、修订再版,使本书更加符合现代医学和医学教育发展的需要。

编者  
上海第二医科大学

# 目 录

<b>第一章 红细胞系统疾病</b> .....	(1)
第一节 概述.....	(1)
第二节 阵发性睡眠性血红蛋白尿症.....	(2)
第三节 温抗体型自身免疫性溶血性贫血.....	(9)
第四节 冷凝集素综合征.....	(12)
第五节 阵发性冷性血红蛋白尿症.....	(15)
第六节 药物免疫性溶血性贫血.....	(17)
第七节 微血管病性溶血性贫血.....	(19)
第八节 缺铁性贫血.....	(21)
第九节 巨幼细胞贫血.....	(26)
第十节 再生障碍性贫血.....	(30)
第十一节 纯红细胞再生障碍性贫血.....	(35)
第十二节 真性红细胞增多症.....	(36)
<b>第二章 白血病</b> .....	(40)
第一节 概述.....	(40)
第二节 理论基础.....	(41)
第三节 检验项目.....	(47)
第四节 临床实践.....	(53)
<b>第三章 白细胞系统疾病</b> .....	(82)
第一节 概述.....	(82)
第二节 骨髓增生异常综合征.....	(84)
第三节 传染性单核细胞增多症.....	(89)
第四节 恶性组织细胞病.....	(93)
第五节 霍奇金病.....	(97)
第六节 非霍奇金淋巴瘤.....	(101)
第七节 骨髓纤维化.....	(107)
第八节 脾功能亢进.....	(110)
<b>第四章 血栓与止血性疾病</b> .....	(115)
第一节 概述.....	(115)
第二节 特发性血小板减少性紫癜.....	(121)
第三节 继发性血小板减少.....	(126)
第四节 血栓性血小板减少性紫癜和溶血尿毒症综合征.....	(130)

第五节	过敏性紫癜	(135)
第六节	弥散性血管内凝血	(138)
第七节	易栓症	(149)
第八节	原发性纤维蛋白溶解症	(161)
第九节	病理性抗凝物质增多	(165)
一、	凝血因子抑制物	(165)
二、	肝素样抗凝物质	(169)
三、	狼疮样抗凝物增多	(170)
第十节	血栓前状态	(173)
附录一	血液凝固分析仪的临床应用	(181)
附录二	常用血液学实验检查参考值	(183)
附录三	常用血液学英汉缩略语词汇	(186)
索引		(191)



# 第一章 红细胞系统疾病

## 第一节 概 述

红细胞是血液中数量最多的一种血细胞,具有多种功能,在维持机体正常功能方面具有重要作用。

### (一) 红细胞结构

1. 红细胞膜 红细胞膜是由膜蛋白、膜脂质、膜糖类和膜酶类等组成。红细胞膜中,蛋白质约占 60%,脂质约占 40%,糖类只占少量成分。红细胞膜以双层脂质为支架,蛋白镶嵌于脂质之间。红细胞的膜蛋白具有多种功能,如物质转运、受体功能、酶活性调节、特异性抗原表达等。膜脂质呈液态状,其中的膜蛋白可以横位移动。

2. 血红蛋白 血红蛋白(Hb)是红细胞的主要成分,它是由两对不同的珠蛋白肽链和血红素构成的四聚体,其中珠蛋白由四条多肽链组成,分别为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 。根据其彼此的不同组合,可将血红蛋白分为三种:HbA( $\alpha_2\beta_2$ )、HbA<sub>2</sub>( $\alpha_2\delta_2$ )、HbF( $\alpha_2\gamma_2$ ),其中 HbA 是正常成人血红蛋白的主要成分,约占 95%,HbA<sub>2</sub> 约占 2.5%,HbF 是胎儿期血红蛋白的主要成分,出生 6~12 个月后明显减少。当红细胞被破坏,血红蛋白可被单核-巨噬细胞系统吞噬,分解为血红素和珠蛋白,血红素可降解为胆绿素,胆绿素可转变成胆红素进行胆红素代谢,其中的铁可为机体再利用。当机体内发生血管内溶血,血浆游离血红蛋白增多,可出现血红蛋白尿。血循环内的游离结合珠蛋白、血红素结合蛋白和白蛋白可与血红蛋白结合。结合珠蛋白是一种糖蛋白,与血红蛋白有很强的亲和力,结合成复合物,然后在肝脏被清除。当结合珠蛋白与血红蛋白结合的量大大超过饱和程度之后,除少部分未被结合的游离血红蛋白直接被肝清除外,其余被氧化成高铁血红蛋白,再分解成血红素和珠蛋白。血红素再与血红素结合蛋白或白蛋白结合,最后被肝清除。

### (二) 红细胞生理学特性及功能

正常红细胞呈双凹圆碟形状,平均直径为  $8\mu\text{m}$ ,周边稍厚。在一定的条件下,红细胞可变成其他形状,称为红细胞的可变形性。流动的红细胞在通过毛细血管时,一般要经过较大的变形才能完成。正常情况下,红细胞的渗透压与血浆相等,变动范围为  $280\sim 310\text{mmol/L}$ 。若将红细胞置于低渗液中,水会渗入红细胞使之膨胀,随着渗透压的降低,红细胞因过度膨胀而破裂,血红蛋白从红细胞内逸出,这种现象称为溶血。红细胞对低渗溶液具有的抵抗力称为红细胞的渗透脆性。此外,红细胞膜还对细胞内外的物质具有选择通透性,红细胞在血浆中还具有悬浮稳定性。

红细胞的主要功能是在血液中运输氧和二氧化碳。另外,红细胞还可通过自身的缓冲系统参与对体液酸碱度的缓冲,这些功能都是依靠血红蛋白完成的。血红蛋白在红细胞内才能发挥作用,红细胞破裂溶血时,血红蛋白逸出则丧失其功能。另外,当血红蛋白与一氧化碳结合形成一氧化碳血红蛋白,其分子中所含  $\text{Fe}^{2+}$  被氧化为  $\text{Fe}^{3+}$ ,形成高铁血红蛋白时,亦将丧失其功能。

### (三) 红细胞生成及调节

红细胞是由骨髓多能干细胞分化而来,经过原始红细胞、早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞,再到网织红细胞,最后成熟。红细胞的生成与许多物质有关,如维生素  $\text{B}_{12}$  和叶酸作为辅酶用来合成脱氧核糖核酸,以供细胞分裂的需要;此外还需要铁来合成血红素,供合成血红蛋白的需要。红细胞的生成受神经、激素和红细胞生成素(EPO)的调节,其中激素包括性激素、肾上腺皮质激素、甲状腺素等。

### (四) 红细胞疾病

红细胞疾病按红细胞数量异常情况可分成两类:红细胞减少和红细胞增多。

1. 红细胞增多 红细胞增多又可分为红细胞生成过多和红细胞生成正常两类:生成正常的红细胞增多主要见于脱水;生成过多的红细胞增多可见于真性红细胞增多症和继发性红细胞增多症。

2. 红细胞减少 红细胞减少或血中血红蛋白浓度、红细胞比容低于同年龄和同性别正常人的最低值,即为贫血。贫血有关的临床表现、病理生理学基础是血液携氧能力的减低,其表现决定于各器官和组织的缺氧程度和对缺氧的代偿功能和适应能力。根据病因和发病机制,贫血可以分成以下几类:

(1) 红细胞生成减少:①造血物质缺乏,如缺铁性贫血、巨幼细胞贫血等;②骨髓造血功能障碍,如再生障碍性贫血、伴慢性系统性疾病性贫血、铁粒幼细胞贫血(sideroblastic anemia)等。

(2) 红细胞破坏过多:又称溶血性贫血(hemolytic anemia)包括:①红细胞内在缺陷,如遗传性球形红细胞增多症(hereditary spherocytosis)、红细胞酶缺乏的贫血、珠蛋白生成障碍性贫血(thalassemia)、异常血红蛋白病(abnormal hemoglobinopathy)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症等;②红细胞外来因素,如免疫性溶血性贫血(immune hemolytic anemia)、机械性溶血性贫血、其他因素引起的溶血性贫血等。

(3) 红细胞丢失过多:急性失血性贫血、慢性失血性贫血等。

(丛玉隆 邓新立)

## 第二节 阵发性睡眠性血红蛋白尿症

阵发性睡眠性血红蛋白尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)又称阵发性夜间血红蛋白尿症。该症的特殊表现为慢性溶血性贫血,可有大量血管内溶血的发作,引起血红蛋白尿,常于睡眠时加重。PNH的发病特点为:患者男性多于女性,常有轻、中度出血;腹痛者较少,腹痛多与血红蛋白尿有关,而非因栓塞引起;全血细胞减少者多见,白细胞及血小板

减少较显著;血管栓塞发生率并不很低,但发生较晚,主要表现在浅表静脉,较少累及内脏;主要死因为感染而非栓塞所致。

该症在欧美比较少见,亚洲报道的病例较多。在中国华北、东北 PNH 是较多见的溶血性贫血,北方多于南方。

## 【理论基础】

阵发性睡眠性血红蛋白尿症通常被认为是一种溶血性疾病,但实际上它是一种获得性造血干细胞(HSC)病,也是异常克隆扩增的结果。患者异常克隆和正常造血同时存在,可能由于基因突变所致。产生的成熟血细胞因有膜病变,对补体(complement, C)异常敏感而被破坏,引起血管内溶血,常于睡眠后阵发性血红蛋白尿发作并加重。睡眠诱发溶血的机制可能是由于睡眠时呼吸中枢敏感性降低、酸代谢产物堆积、pH下降的缘故。

### (一) 发病机制

1. 克隆性干细胞病学说 PNH 血细胞的异常不限于红细胞,还有粒细胞和血小板。患者的粒细胞对补体的敏感性增高 5 ~ 10 倍,血小板增高 10 ~ 32 倍。PNH 患者血小板在酸化血清中或离子强度弱的介质中也容易溶解。虽然 PNH 患者粒细胞及血小板(偶尔还有一部分淋巴细胞)的寿命正常,但也明显缺乏红细胞膜蛋白衰变因子(decay - accelerating factor, DAF),由此可以推测,PNH 细胞的缺陷在 HSC 阶段已经存在。

由于同一 PNH 患者的红细胞对激活补体的敏感性有显著不同,提示对补体敏感性正常、中度敏感和显著敏感的细胞群来自不同的克隆。PNH 患者血液发生补体溶血的红细胞在体外试验中都显示不含乙酰胆碱酯酶活性,而不发生溶血的红细胞则含有这种酶的活性,说明 PNH 患者红细胞与正常红细胞分属于不同的克隆。在 PNH 患者骨髓细胞培养研究中证实,红细胞系统集落有两种,正常细胞及 PNH 细胞。

2. 红细胞的膜缺陷 PNH 患者血细胞膜蛋白异常,特别是补体调节蛋白的缺陷导致细胞对补体的异常敏感。不同类型的细胞有不同程度或不同类型的补体调节蛋白缺陷,PNH 患者血细胞缺乏经糖化肌醇磷脂(G - PI)锚定在膜上的蛋白,这类膜蛋白包括:

(1) 乙酰胆碱酯酶(AchE): PNH 患者红细胞膜异常是缺乏 AchE,其缺乏程度与溶血严重程度相关。

(2) 衰变加速因子(DAF): DAF 是存在于正常红细胞、白细胞及血小板膜上的一种糖蛋白,它作用于  $C_3$  转化酶和  $C_5$  转化酶,使之裂解,从而保护细胞免受自身补体的攻击。PNH II 型及 III 型红细胞已证实缺乏 DAF,导致膜上形成更多的  $C_{3b}/C_{5b}$ 。这是造成 PNH 细胞补体敏感的原因之一。

(3)  $C_8$  结合蛋白( $C_{8b}P$ ):  $C_{8b}P$  的功能是与自身或同种异体的  $C_8$  分子结合,封闭  $C_{5b-8}$  的  $C_9$  结合位点,从而抑制攻膜复合物(MAC)的形成。PNH 患者红细胞膜上缺乏  $C_8$  结合蛋白。

(4) 同种限制蛋白(HRP): HRP 与  $C_8$  结合蛋白可能是同一蛋白。HRP 可与  $C_9$  结合,阻止  $C_9$  的聚合。PNH 患者红细胞缺少这种膜蛋白,故易遭受补体损伤。每个 PNH 患者红细胞掺入 1 000 个 HRP 可使  $C_{5b-9}$  引起的溶血趋于正常。

(5) 反应性溶血的膜抑制物(MIRL): MIRL 是一种膜蛋白。其作用是抑制结合在细胞膜上的  $C_{5b-7}$  再与  $C_7$  结合,从而抑制 MAC 的形成。PNH III 型红细胞能被眼镜蛇毒因子(CoF)激活的补体溶解, I 型、II 型及正常红细胞则不被溶解,说明后三种细胞有一种抑制眼镜蛇

毒诱发溶血的膜成分。PNH II 型细胞也缺乏 MIRL,但程度较轻,由于抑制眼镜蛇毒激活补体的溶血作用所需 MIRL 量小,故 II 型细胞不被溶解。

#### (6) PNH 红细胞膜的区带蛋白减少。

3. 补体作用 补体的激活可由于 pH 的降低(如酸溶血试验)、离子强度减低(糖水溶血试验)、蛇毒(蛇毒因子溶血试验)、 $Mg^{2+}$  浓度增高或存在抗体而发生。Rosse 发现 PNH 患者红细胞存在三种细胞群: I 型为细胞的补体敏感性正常或接近正常; II 型为中度敏感细胞,补体敏感性是正常的 3~5 倍; III 型为高度敏感细胞,补体敏感性是正常的 25~30 倍。三类细胞所占比例决定患者溶血的程度和频度,其中起决定性作用的是 I 型细胞的数量。

4. PNH 患者红细胞对补体敏感的机制  $C_3$  转化酶和  $C_5$  转化酶都不稳定,正常红细胞膜上的 DAF 对其活性起抑制作用。由于 PNH 患者红细胞缺乏 DAF,因而比正常红细胞的  $C_3$  转化酶更稳定,能产生大量的  $C_{3b}$  结合于 PNH 细胞。PNH II 型细胞体内寿命仅轻度缩短, III 型细胞则明显缩短。III 型红细胞对补体的敏感性更为显著的原因有以下几点:①在 DAF 缺乏程度方面 III 型和 II 型细胞有明显差异, II 型为部分缺乏, III 型为完全缺乏;②同样多的  $C_{3b}$  结合到 II 型细胞和 III 型细胞上,后者的溶血敏感性比前者高 4~6 倍。1985 年 Rosse 等证明, III 型细胞并不比 II 型细胞结合的  $C_{3b}$  多,但却能结合更多的终末段补体复合物(MAC),而且溶解 III 型细胞所需的 MAC 远较正常细胞和 II 型细胞少,说明溶解更多的是 III 型细胞因 MAC 相互作用量的差异所造成的;③大多数 PNH 患者的溶血是由于反应性溶血反应(reactive lysis reaction),即补体在液相中激活或是在红细胞外激活,产生  $C_{5b-7}$ ,然后结合到红细胞膜上,再与  $C_8$  及  $C_9$  作用,产生 MAC 所致。PNH III 型细胞比 II 型细胞更容易结合  $C_{5b-7}$ ,其原因可能与  $C_{5b-9}$  的抑制物与蛋白有关。II 型细胞可与  $C_{5b-7}$  结合成敏感结合  $C_{5b-7}$  ( $SC_{5b-7}$ ),此时再形成的  $SC_{5b-9}$  即不能插入细胞膜,其中的  $C_9$  不能聚合;④ PNH III 型细胞上组成的  $C_{5b-8}$  比较稳定,  $C_9$  有更多的时间和机会在其失活前与之结合成 MAC;⑤一般情况下补体不能有效地溶解同种红细胞,而 PNH 患者红细胞可被自身补体溶解,失去了种系限制性,这与几种补体调节蛋白的异常有关,其中之一是缺乏 DAF。但 DAF 缺乏并非是 III 型细胞易遭到自身补体溶解的关键因子,  $C_8$  结合蛋白或 HRP 与自身补体对 III 型细胞的溶解有密切关系。

5. PNH 患者体内红细胞溶解的机制 有些 PNH 病例可因下列原因使溶血发作或加重:细菌感染、体温升高、感冒、输血、劳累过度、情绪波动、药物,如铁剂、阿司匹林、肝浸膏、氯化铵、苯巴比妥、青霉素、左旋咪唑、司坦唑(康力龙)、呋喃妥因、氯丙嗪、乙酰唑胺、羚翘解毒丸、速效感冒胶囊等,受寒、饮酒过多、某些食品(酸性食物、浓茶)、月经、妊娠、手术、预防接种等。但引起溶血发作的确切病理机制大多不清楚。

补体被激活是 PNH 患者溶血的重要机制,许多因素可通过激活补体使本症溶血加重。在体外试验中虽然已充分证明 PNH 患者红细胞对补体敏感,但还没有足够的直接证据说明患者体内红细胞总是由补体的作用才发生溶血。临床上引起 PNH 患者溶血的情况很多,有些与补体无关。PNH 患者往往是在经常性少量溶血的基础上阵发性加重,但经常性的少量补体激活是否真在体内发生,目前尚无满意的解释。

6. 红细胞抗氧化性损伤能力的减低 PNH 患者红细胞经 6%  $H_2O_2$  处理后,产生的膜脂质过氧化产物丙二醛(MDA)显著高于正常人及其他贫血患者的量。MDA 可使红细胞膜蛋白聚合,巯基减少,血红蛋白氧化变性,引起溶血。PNH 患者红细胞的自氧化作用比正常红

细胞高,氧合血红蛋白的减低和高铁血红蛋白的增加均比正常红细胞明显,受超氧化物阴离子( $O_2^-$ )氧化前,PNH 患者红细胞的 MDA 含量比正常红细胞高,受氧化后 MDA 增高更显著,并且在受氧化后 PNH 患者红细胞高铁血红蛋白的增高比正常红细胞更为显著。

#### 7. 其他

(1) 红细胞形态异常:在扫描电镜下可见患者正常的光滑双凹盘形红细胞显著减少,而球口形、碗形、陷窝形和环形红细胞增多。有些细胞表面有波纹或皱缩,部分细胞有小坑或隆起。

(2) 膜脂质异常:曾报道 PNH 患者红细胞膜中的花生四烯酸、戊酸增多,甘油酸、棕榈酸减少。

(3) 钙泵和钠泵:有人报道 PNH 患者红细胞膜上的  $Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATP$  酶活性增高; $Na^+ - K^+ - ATP$  酶活性增高。

### 【检验项目】

#### (一) 血象

患者血红蛋白尿每发作一次,血红蛋白可下降  $20 \sim 46g/L$ 。白细胞(中性粒细胞减少亦较明显)减少。不发作 PNH 者血小板减少机会最低,偶发 PNH 者次之,频发 PNH 者最高。全血细胞减少者亦然。网织红细胞计数大多轻度增高,少数正常或减低,它与患者骨髓增生程度及溶血程度有关。

#### (二) 骨髓象

大多数 PNH 患者骨髓增生活跃或明显活跃,以红细胞系统增生最为明显,呈增生性贫血象,少数不典型病例开始可有骨髓增生不良;血小板减少者可有巨核细胞减少;骨髓铁染色(外铁)试验常呈阴性,但经多次输血者可正常或增多。可有两系统血细胞或三系统血细胞病态造血。红细胞系统易见核分裂、巨幼样变,并可见二核、三核、甚至四核幼红细胞;粒细胞系统可出现原粒细胞、早幼粒细胞比例增高;早幼粒细胞可见胞体大,颗粒粗重,布满胞质;中幼粒细胞可有核质发育不平衡及粒细胞系统成熟停滞。巨核细胞系统可出现变性巨核细胞,形成的血小板形状不良,如小巨核细胞及巨大血小板。这些变化易与骨髓增生异常综合征、巨幼细胞贫血、红白血病相混淆。

#### (三) 血液生化检查

PNH 患者血浆游离血红蛋白可增高;血浆结合珠蛋白(HP)减低,血红蛋白减低与 HP 值呈正相关;血结蛋白(Hx)减低,且与溶血程度呈正比。

#### (四) 血管内容血试验

1. 尿潜血 患者尿潜血试验阳性是血红蛋白尿的直接证据,但需与血尿或尿中有红细胞溶解而使尿潜血阳性者相鉴别,并排除假阳性结果。

2. Rous 试验 尿含铁血黄素试验呈阳性,反映患者近期内曾有血红蛋白尿。

#### (五) 补体敏感性增高试验

1. 酸化血清溶血试验(Ham 试验) PNH 患者对 Ham 试验特异性高,是国内外公认的 PNH 的确诊试验,但会产生假阴性,应强调方法标准化,要与阴性对照。用光电比色法,一般 PNH 患者的溶血度在 10% 以上,阳性率为 78%~80%。

2. 糖水溶血试验 本试验对 PNH 的敏感性最高,但特异性稍差。溶血度 > 10% 才肯

定属阳性,PNH 患者阳性率为 90%~91%。

3. 蛇毒因子溶血试验 蛇毒因子通过某种血清因子可在液相激活中经替代途径激活补体。因而本试验在一定程度上更能反映 PNH III 型细胞的多少。阳性率与 Ham 试验相似,为 78%~80%。

4. 补体溶血敏感试验 观察患者红细胞被溶解所需要的补体量,从而测得受检红细胞对补体的敏感程度,并进行 PNH 红细胞分群研究。周凤兰等先后报道正常人红细胞补体溶血敏感性(CLS)为 6.3~8.3,并认为观察 I 型细胞与 II 型或 III 型细胞的 CLS 比值更有意义(表 2-1-1)。

表 2-1-1 PNH 红细胞型的补体溶血敏感性(CLS)比值

PNH 的细胞型	CLS
I 型	<11(10.4±5.0)
II 型	17~25
III 型	>35
正常型	7.1±1.3

1989 年,杨天楹等进一步将每型红细胞所占百分比与 CLS 试验结果结合考虑,提出补体溶血敏感性分值(CLSS)的计算公式,并按 CLSS 的多少将 PNH 分为三组:第一组 CLSS > 300 分,全部是频发型与偶发型;第二组 CLSS 为 200~300 分,多为偶发型,也有少数频发型;第三组 CLSS < 200 分,均为不发型。CLSS 可作为患者血红蛋白尿发作情况及病情的观察指标,也可作为药物治疗的疗效评价。

5. 其他检验 ①热溶血试验,本试验敏感性较差,且缺乏特异性,除 PNH 患者外,酶缺乏性溶血性贫血和遗传性球形红细胞增多症患者亦可为阳性。该试验可作为 PNH 的初筛试验;② $\alpha_1$  抗胰蛋白酶( $\alpha_1$ AT),PNH 患者  $\alpha_1$ AT 较正常人明显减少, $\alpha_1$ AT 减少的程度与贫血程度的轻重呈正相关,与血浆游离血红蛋白及网织红细胞的升高呈负相关。本机制尚未明确,最可能的是患者因溶血而释放的凝血活酶或磷脂激活凝血系统,被激活的凝血因子因被  $\alpha_1$ AT 拮抗而消耗了  $\alpha_1$ AT,使血清  $\alpha_1$ AT 减少;③抗凝血酶 III(AT-III),PNH 患者 AT-III 低于正常对照值( $P < 0.001$ );④ $\alpha_2$  巨球蛋白( $\alpha_2$ M),PNH 患者低于正常对照值( $P < 0.01$ )。在溶血较重的 PNH 病例中, $\alpha_2$ M 及  $\alpha_1$ AT 减少尤为显著。它们与 AT-III 在 PNH 患者中减少的意义相似,即可能因发挥抗凝作用而消耗;⑤ $\beta_2$  微球蛋白( $\beta_2$ M),PNH 患者  $\beta_2$ -M 低于正常对照值( $P < 0.01$ ),减少程度依溶血程度的轻、中、重而逐渐明显。轻度与中度组、中度与重度组比较, $P$  值均  $< 0.05$ 。轻、中、重三组  $\beta_2$ -M 分别与血结蛋白的降低程度有关;⑥纤维结合蛋白(Fn),PNH 患者 Fn 显著减低, $P < 0.01$ 。在出现酱油色尿时 Fn 减低更为显著;血红蛋白尿消失后 Fn 逐渐升高。无论患者有无酱油色尿,Fn 与血红蛋白、结合珠蛋白呈正相关, $P$  值均  $< 0.05$ ,而与血浆游离血红蛋白呈负相关, $P < 0.05$ ,提示本病 Fn 的下降与溶血有关,其下降幅度与溶血严重度呈平行关系;⑦血清及红细胞锌 Zn 铜 Cu,PNH 患者血清锌及红细胞锌明显减低,可能因溶血后过多的锌由尿排出引起锌缺乏有关。且 PNH 患者血清和红细胞锌低于自身免疫性溶血性贫血患者,提示 PNH 患者以血管内溶血为主,自身免疫性溶血性贫血患者以血管外溶血为主,前者的锌排出相对较重。缺锌可引起血清铜升高,PNH 患者血清铜的增高,可能与体内锌的减少有关。1975 年,Prasad 等认为血清 Cu/Zn 比值和红细胞锌,对反映体内锌缺乏比血清锌更好。溶血性贫血时,溶血还可造成血清锌测出值假性升高,而红细胞锌则不受影响。本病红细胞过氧化物歧化酶(SOD)降低,可能与锌减少有关,因 SOD 是一种锌依赖酶。对红细胞锌明显减低者,适量补充锌制剂推测可能会提高红细胞 SOD 活性,减少溶血的产生;⑧尿铁,PNH 患者尿铁排泄量增高。游离红细胞原卟啉(FEP)

急性发作期均较发作期以前的数值增高。

6. 红细胞形态 PNH 患者红细胞在扫描电镜下显示正常的光滑双凹盘形红细胞明显减少,球口形及中心浅染等红细胞显著增多。

7. 造血祖细胞培养 部分 PNH 患者的骨髓红细胞爆式集落形成单位(BFU-E)、红细胞集落形成单位(CFU-E)及粒细胞-巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM)减少,不同患者可有很大差异。细胞丛与集落均明显低于正常值,但丛与集落的比值高于正常,三者  $P$  值均  $<0.01$ 。同时患者粒细胞绝对值亦低于正常,  $P < 0.01$ 。PNH 患者溶血(血红蛋白尿)发作频率与 CFU-GM 和外周血粒细胞绝对值的关系为:不发组和偶发组的结果均低于频发组。PNH 患者的结果显著高于与之相关的再生障碍性贫血,因此 PNH 患者的粒单祖细胞的生成有缺陷或障碍;溶血可能刺激骨髓粒单祖细胞的分化增殖能力代偿性增高。

8. 标记技术 PNH 患者细胞的主要缺陷是 PI 连接蛋白的缺失,可用特异性强的抗体(常常是单克隆抗体)与之结合。现多用荧光标记,可直接检测这类膜蛋白的多少,也有助于诊断方法的改进。

PNH 患者的红细胞作补体溶血敏感试验,同时用流式细胞仪分析红细胞表面的 PI 连接蛋白的量,可以看出两者有较好的平行关系,对补体最敏感的 III 型细胞膜蛋白缺失最严重或完全缺失,补体敏感性接近正常的 I 型细胞则膜蛋白没有明显减少,补体敏感性介乎中间的 II 型细胞的膜蛋白量居中。用本法不仅可以查出膜蛋白缺失程度,而且也能得知某种缺失程度的细胞所占的百分数。用补体敏感试验查不出膜蛋白缺陷的 PNH 患者,用本法可以检出,因此认为本法是更为敏感的检测手段。应用本法需注意的是:①PI 连接蛋白的缺失不一定总是与补体敏感性同步的;②红细胞的 DAF 在正常情况下也为数不多,因此,若抗体不强,则不易区分是 DAF 正常还是减少(特别是轻度减少);③有个别 PNH 患者的红细胞及中性粒细胞上的 DAF 及 AchE 均正常。故应用本法时,最好能检测几种 PI 连接蛋白,特别要包括 MIRI 及淋巴细胞因子抗原-3(LFA-3)。

除红细胞外,测定中性粒细胞的 PI 连接蛋白,包括 DAF、III 型 Fc 受体(FcR III,  $C_{16}$ )、 $CD_{24}$ 、 $CD_{67}$ 、LFA-3( $CD_{58}$ )等,发现全部受检的 PNH 患者的中性粒细胞均有 PI 连接蛋白的缺失,少数再生障碍性贫血患者的部分中性粒细胞也缺乏(这些患者的酸化血清溶血试验均阴性),而正常人及其他贫血患者则不缺。因此,认为检测中性粒细胞的 PI 连接蛋白是有助 PNH 诊断的特异性及敏感性都较高的诊断方法。

## 【临床实践】

### (一)诊断标准

#### 1. 国内标准

(1) 临床表现:患者临床表现符合 PNH 病症,如贫血、血管内溶血、全血细胞减少,或不伴血栓形成等。

(2) 实验室检查:酸化血清溶血试验、糖水溶血试验、蛇毒因子溶血试验、尿潜血(或含铁血黄素)等几项实验中凡符合下述任何一种情况,即可诊断为 PNH:①两项以上的阳性;②一项阳性,但须具备下列条件:该项试验两次以上均阳性,或一次阳性,但操作正规、有阴性对照、结果可靠,即时重复试验仍阳性者;③有溶血的其他直接或间接证据,或有肯定的血红蛋白尿发作。能排除其他溶血,特别是遗传性球形红细胞增多症、自身免疫性溶血性贫血、

G-6-PD 缺乏症所致溶血和阵发性冷性血红蛋白尿症(paroxysmal cold hemoglobinuria)等。

2. 国外标准 国外诊断本病的主要要求是在实验室中能证明有对补体敏感的红细胞。虽然糖水试验、热溶血试验、菊糖试验、尿潜血及尿含铁血黄素检查、红细胞乙酰胆碱酯酶测定等都可用为初筛试验,但赖以确诊者仍为 Ham 试验。研究认为要求两次或两次以上重复阳性;试验方法要标准化,要有正常人阴性对照。至少要做到三管法,即第一、二、三管各加 10 份 ABO 血型相配的正常人新鲜血清(含足够补体),各加一份 0.2mol/L 的盐酸,然后各加一份 50% 经生理盐水洗涤的患者红细胞悬液,置于 37℃ 水温中水浴孵育 60 分钟,拿出混匀后再离心,观察上清液有无溶血,若第一管为溶血,第二、三管均无溶血,方可确认本试验为阳性。由于有的正常人血清补体含量不足,可影响试验结果,因此,最好每例患者红细胞分别与 3~5 名正常人血清进行筛选试验,或采用新鲜或冻存的同型或 AB 型正常人的混合血清为佳。对先天性红细胞系统造血异常性贫血 II 型,即酸化血清试验阳性的遗传性有核红细胞多核症(HEMPAS),因 HEMPAS 患者的红细胞在酸化的自身血清中不溶,可用自身血清。遗传性球形红细胞增多症患者的球形红细胞在酸性条件下也易溶解,但不需补体。另外,患者血清加正常红细胞若发生溶血,则可能患者血清中有溶血素,而非 PNH。

## (二) 鉴别诊断

### 1. 再生障碍性贫血(AA)-PNH 综合征

(1) AA→PNH: 指原有肯定的 AA 表现(缺少能诊断 PNH 的早期依据),转为确定的 PNH 表现,AA 的表现已不明显。

(2) PNH→AA: 指原有肯定的 PNH 表现(与下述第 4 类不同),转为明确的 AA 表现,PNH 的表现已不明显。

(3) PNH 伴有 AA 特征: 指临床及实验室检查资料均说明病情仍以 PNH 表现为主,但伴有一个或一个以上部位的骨髓增生低下,巨核细胞减少,网织红细胞不增高等 AA 表现者。

(4) AA 伴有 PNH 特征: 指临床及实验室检查资料均说明病情仍以 AA 为主,但伴有 PNH 的有关化验结果阳性者。

2. 再生障碍性贫血 PNH 与 AA 在许多阳性指征的有无、程度和频度上有所不同,如 AA 患者淋巴细胞比例增高,骨髓非造血细胞比例增高,常有较严重出血,感染多见,无巩膜黄染,无铁血黄素尿,网织红细胞绝对值低(百分率多数亦低),酸溶血试验阴性(很少数为阳性),血浆及红细胞 AchE 活性正常,中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)活性增高,24 小时尿铁排出量 < 2mg(PNH > 3mg); PNH 患者以上情况则相反或显著不同。

3. 缺铁性贫血 PNH 患者每日从尿中排出一定量的铁,即使不发作时铁排出量亦不减少,故可并发缺铁性贫血。但患者贫血症状与缺铁性贫血患者不同,即不能因服铁而被完全纠正,且常量铁剂治疗有可能诱发血红蛋白尿。

4. 营养性巨幼细胞贫血 由于溶血使 PNH 患者骨髓红细胞系统高度增生,致叶酸消耗过多,患者可有血清叶酸减低,少数可发生骨髓红细胞系统巨幼样变,在使用叶酸治疗后贫血仍得不到明显改善,而营养性巨幼细胞贫血则对叶酸治疗反应良好。

5. 自身免疫性溶血性贫血(autoimmune hemolytic anemia, AIHA) PNH 患者在血红蛋白尿发作前和发作中抗人球蛋白试验有时可呈阳性; AIHA 患者偶尔也出现糖水溶血试验阳性。但这两种试验在两种疾病中的阳性率和阳性程度显著不同。



### (三) 疗效标准

1. 国内疗效标准 根据1987年全国溶血性贫血专题学术会议(简称会议)的讨论,考虑到PNH患者的临床表现个体差异较大,判断疗效只能在患者原有的基础上进行。由于病程缓慢,病情可有自然变化,因此,观察期应在一年或一年以上才能进行前后比较。为了便于比较,要对观察期前后的主要临床表现进行分级:

(1) 贫血分级: 患者Hb < 30g/L为极重度, Hb为31~60g/L为重度, Hb为61~90g/L为中度, Hb > 90g/L为轻度。

(2) 血红蛋白尿分级: 患者≤2个月发作一次为频发, >2个月发作一次为偶发, 观察2年无发作为不发(观察不足2年未发为暂不发)。

(3) 骨髓增生程度分级: 除按患者有核细胞数划分为四级外, 尚需注意粒细胞/有核红细胞的比, 低下者需注明是单部位还是多部位。

会议建议的疗效标准如下:

(1) 近期临床痊愈: 患者1年无血红蛋白尿发作, 不需输血, 血象(包括网织红细胞)恢复正常。

(2) 近期临床缓解: 患者1年无血红蛋白尿, 不需输血, 血红蛋白恢复正常。

(3) 近期明显进步: 按观察期前后的病情分级, 凡患者血红蛋白尿发作频度、贫血严重程度、骨髓增生状况中任何一项进步两级者为明显进步。

(4) 近期进步: 患者在病情分级中任何一项进步一级者或其他客观检查有进步者。

(5) 无效: 患者病情无变化或有恶化。

以上观察期≥5年者可去除“近期”两字。判断治疗效果时须排除病情的自然波动。

2. 国外疗效标准 国外没有统一的PNH疗效标准, 综合近年文献资料归纳如下:

(1) 缓解: 患者临床及实验室检查均无PNH表现, 或临床已无本病表现, 但实验室检查仍有PNH红细胞, 属临床缓解。

(2) 明显进步: 患者不需输血, 血红蛋白增长≥30g/L。

(3) 进步: 患者血红蛋白增长 < 30g/L, 或血红蛋白能维持原水平, 但所需输血间隔较前明显延长; 或白细胞数增加  $1 \times 10^9/L$ ; 或血小板数增加  $25 \times 10^9/L$ 。

(4) 无效: 患者病情无进步或有恶化。

(李 健 丛玉隆)

## 第三节 温抗体型自身免疫性溶血性贫血

温抗体型自身免疫性溶血性贫血(warm autoimmune hemolytic anemia, WAIHA)在人群中的发生率是非常低的, 仅为1/80 000, 为自身免疫性溶血性贫血的一种。

### 【理论基础】

温抗体型自身免疫性溶血性贫血的发病率女性要比男性高, 发病年龄多数 > 40岁。WAIHA既可以是原发, 也可继发于其他疾病。这些疾病大致可概括如下: ①网状内皮细胞肿