

毒理学安全性评价系列丛书

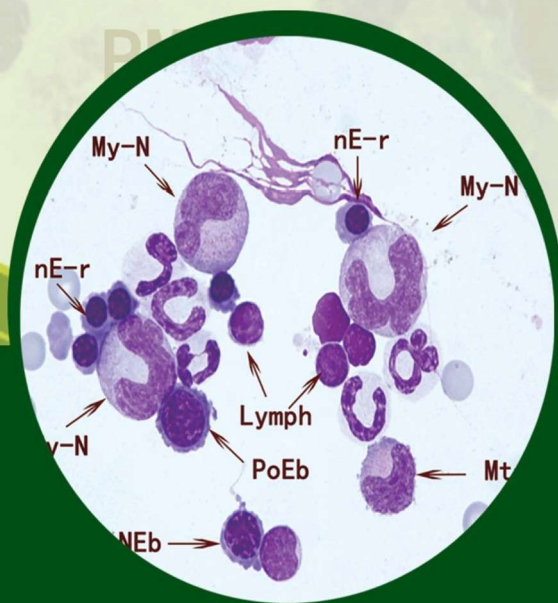
DULIXUE ANQUAN XING

PINGJIA GUSUI XIBAOXUE
YANJIU CHENGXU YU TUPU

毒理学安全性评价

骨髓细胞学 研究程序与图谱

刘 芳 范玉明 顾坚忠 著



电子科技大学出版社

毒理学安全性评价系列丛书

DULIXUE ANQUAN XING

PINGJIA GUSUI XIBAOXUE
YANJIU CHENGXU YU TUPU

毒理学安全性评价

骨髓细胞学 研究程序与图谱

刘 芳 范玉明 顾坚忠 著



电子科技大学出版社

PoEb

图书在版编目 (CIP) 数据

毒理学安全性评价骨髓细胞学研究程序与图谱 / 刘芳, 范玉明, 顾坚忠著. —成都: 电子科技大学出版社, 2011. 12

(毒理学安全性评价系列丛书)

ISBN 978-7-5647-0880-1

I. ①毒… II. ①刘… ②范… ③顾… III. ①骨髓细胞—毒理学—安全性—评价 IV. ①R331.2②R991

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 151917 号

内容提要

本书提供了大鼠、小鼠、犬、猴骨髓细胞采集、涂片、染色、细胞形态观察、骨髓细胞分类计数及骨髓细胞评价的标准操作规程, 汇编了国外药物体外骨髓毒性评价的多种评价方案; 特别是提供了骨髓细胞发育演变过程的骨髓细胞形态学变化图谱及大鼠、小鼠、犬、猴骨髓细胞图谱; 附录汇编了多种动物的骨髓细胞正常值范围。

本书适用于从事药品、食品、化妆品、农药、兽药、医疗器械和工业化学品等安全性评价的工作人员。也可作为生命科学、医学、兽医学等大专院校教师、研究生、广大科研工作者和药品检验人员的参考书。

毒理学安全性评价系列丛书

毒理学安全性评价骨髓细胞学研究程序与图谱

刘 芳 范玉明 顾坚忠 著

出 版: 电子科技大学出版社 (成都市一环路东一段 159 号电子信息产业大厦 邮编: 610051)

策划编辑: 汤云辉

责任编辑: 罗 丹

主 页: www.uestcp.com.cn

电子邮箱: uestcp@uestcp.com.cn

发 行: 新华书店经销

印 刷: 成都火炬印务有限公司

成品尺寸: 205mm×280mm 印张 5.75 字数 170 千字

版 次: 2011 年 12 月第一版

印 次: 2011 年 12 月第一次印刷

书 号: ISBN 978-7-5647-0880-1

定 价: 128.00 元

■ 版权所有 侵权必究 ■

◆ 本社发行部电话: 028-83202463; 邮购部电话: 028-83208003。

◆ 本书如有缺页、破损、装订错误, 请寄回印刷厂调换。

前 言

骨髓是哺乳动物最大的器官之一，也是重要的造血器官，它是各种血细胞的发源地。在国内外重复给药毒理学安全性评价指导原则中，血液学和骨髓细胞学评价均作为重要的评价部分。骨髓是许多药物的敏感靶器官，目前，国内由于骨髓细胞学评价技术方法的限制以及缺少文献资料，对骨髓细胞毒性的研究及报道较少。作者早在 2002 年就开始关注并研究骨髓细胞毒性的检测方法，曾获得日本 JICA 项目的日方专家的帮助和指导，并在 2003 年应 JICA 项目邀请赴日研修，师从日本信州大学的松本清司教授，系统地学习了动物骨髓采集、制片、有核细胞计数及细胞形态学分类等动物骨髓细胞学研究。在此期间与日方专家合作建立了一种快速、简便的进行大鼠骨髓有核细胞计数的新方法。回国后参与国家药物安全评价监测中心临床检测室的建设工作，建立了一系列骨髓细胞学研究的标准操作规程，制备了骨髓细胞形态学标准图谱，并应用于骨髓细胞学研究技术人员培训。

准确、客观的骨髓细胞形态学观察，需要实际经验的不断积累才可能提高，本书汇总了作者 8 年来实验室的相关工作经验，制备了正常实验动物大鼠、小鼠、犬及猴的骨髓涂片照片以及汇总国内外实验室骨髓细胞学研究的标准化程序。由于目前动物骨髓细胞学研究在国内外的相关报道较少，我们也是在不断的探讨和摸索中，书中难免存在不足之处，恳请各位专家、读者赐教。

作 者

2011 年 11 月

目 录

第一章 骨髓的结构与功能.....	1
第一节 概 述.....	1
第二节 骨髓的造血作用.....	3
第三节 骨髓细胞学检查.....	5
第二章 骨髓细胞学研究标准操作规程.....	23
第一节 大鼠与小鼠骨髓细胞检查标准操作程序.....	23
第二节 犬骨髓细胞的检查程序.....	30
第三章 骨髓实验室评价.....	33
第一节 概 述.....	33
第二节 骨髓细胞化学和免疫表型.....	36
第三节 骨髓涂片的评价和结果解释.....	36
第四节 骨髓干细胞紊乱.....	39
第五节 淋巴细胞增殖紊乱.....	44
第六节 其他涉及骨髓的肿瘤性紊乱.....	45
第四章 药物体外骨髓毒性评价：CFU-GM 实验程序.....	47
第一节 测定药物和化学物体外骨髓毒性效应的标准操作程序.....	47
第二节 制备人类造血祖细胞标准操作程序.....	49
第三节 制备啮齿类造血祖细胞（m-BM）的标准操作程序.....	51
第四节 供试品溶液配制的标准操作程序.....	52
第五节 CFU-GM 试验的结果解释的标准操作程序.....	53
第六节 小型化 CFU-GM 试验的标准操作规程.....	54
第七节 试剂和溶液配置的标准操作规程.....	55
第八节 评 述.....	55
第九节 试验问题和处理分析的程序.....	56
第五章 骨髓细胞发育演化形态学.....	57
附录.....	58
比格犬骨髓图谱.....	63
大鼠骨髓图谱.....	70
猴骨髓图谱.....	78
小鼠骨髓图谱.....	82

第一章 骨髓的结构与功能

第一节 概述

一、骨髓

骨髓存在于长骨和扁平骨的骨髓腔内，它由造血组织岛、骨小梁网内散布的血管窦和周围的脂肪细胞构成。成年大鼠的骨髓总重量大约占体重的 3%；成年犬的骨髓总重量大约占体重的 2%。而在人类骨髓里，这个值大约为 5%。越是小型动物其骨髓细胞数量越多，越是大型动物其骨髓细胞数越少，特别是在股骨、肱骨等远心端骨里。动物出生后，骨髓便成为其唯一的造血器官，所有骨髓均有造血活性，称为“红骨髓”；而到了成年期，红骨髓仅存在于扁平骨、股骨和肱骨的近端，而长骨远端骨髓脂肪化，称为“黄骨髓”。当机体处于对血细胞需求量增大的状态或患有特定疾病时，黄骨髓可以重新激活变成“红骨髓”，并具有造血功能。

骨髓是一个重要的造血器官，也是一个重要的淋巴组织，它负责产生红细胞、粒细胞、单核细胞、淋巴细胞和血小板。造血功能越近心端，功能越活跃（如肋骨和胸骨）。

骨髓血液供应，由一个动脉和 1~2 个静脉组成，通过皮质骨进入骨髓腔。在扁平骨有大量大小不一的血窦进入骨髓，进入后动脉分为上升和下降分枝，沿着骨髓腔的长轴平行走行，主要静脉在骨髓沟内卷曲，分布为中央纵行静脉。动脉分枝成众多小薄壁的细小动脉，并形成伸展向皮质骨表面的毛细血管、细小动脉展开向上与静脉窦血管丛吻合。这些静脉窦汇集到中央的采集静脉，从营养静脉流向中央纵行静脉。骨髓具有广泛的血液供应，它表现出营养动脉产生出毛细血管，伸展到哈佛式管，回到骨髓腔，然后，再回到静脉窦内。因此，在骨髓腔内具有一种血液流动的循环模式，从骨髓腔的中央流向骨髓腔的周边，然后再流回中央。

在长骨和扁平骨中，骨和骨髓的血液供应，通过血管的骨内膜网络相互连接。静脉窦是薄壁的，内由小的到无基底膜的扁平内皮细胞层构成，该骨髓不具有淋巴排出能力。骨髓中的血液循环是“密闭”的，血管内皮从动脉到静脉是连续的。

骨髓神经分布，由具有髓鞘的和不具有髓鞘的神经构成，并随营养渠道进入。有些神经分布也通过髓和干髓端进入。神经束沿骨髓的供给血管的平滑肌分布，终止于含有造血细胞的造血组织。

二、骨髓造血功能及调节

造血组织由各种各样的细胞类型构成，包括血细胞、血细胞的前体细胞、外膜/屏障细胞、脂肪细胞和巨噬细胞。造血组织细胞不是随意组合的，但是，在组织内显示出特殊的构造。对于造血作用，存在维持造血干细胞的微环境，有支持干细胞沿着特定祖系增殖、分化和成熟的因子，如细胞活素。造血微环境有外膜网状细胞（如屏障细胞）、内皮细胞、巨噬细胞、脂肪细胞，也可能有骨髓腔的骨内膜细胞（如成骨细胞）和细胞外基质组分。

红细胞生成是发生在解剖学上称为成红细胞岛的部分，它是具有造血作用的造血组织。

粒细胞生成较少出现明显的灶和巨核细胞出现与窦内皮细胞相邻，进一步成熟，造血细胞受屏障细胞调节，横越静脉窦壁进入血液，血小板从巨核细胞直接释放，穿透窦壁进入窦内。



血细胞的生产、分化和成熟过程受体液因子的调节，有些因子如红细胞生成素作用在较晚期的一种特殊细胞系，有些因子如 BPA/IL-3 作用在更原始的细胞上，具有一种全面性作用，根据造血因子的来源不同而异。红细胞生成素主要来源于肾脏，少量来源于肝脏。刺激特定红细胞生成祖细胞的增殖，促进不成熟红细胞释放，高水平增加和分化成红细胞的祖细胞的比率，促进爆发性作用（Burst Promoting Activity, BPA）。IL-3 由 T 淋巴细胞和骨髓细胞产生，可能是与 BPA 同样的巨大分子。克隆刺激分子（Colonial Stimulating Factors, CSF）由各种各样的细胞产生，包括巨噬细胞、单核细胞、成纤维细胞、内皮细胞、淋巴细胞和胎盘。大部分的细胞介素、B 细胞生长因子、B 细胞分化因子来源于 T 淋巴细胞。IL-1 由巨噬细胞产生。激素也起重要的生理作用。例如，增加或下降循环红细胞计数，在雌性或雄性大鼠去势后（性腺去除后），给予相应的性腺激素后，性腺切除后的效应也被去除。此外，在雌性大鼠卵巢摘除后，骨髓形态学也发生改变。垂体、肾上腺、甲状腺、性腺激素，通过改变红细胞生成素的产生和改变红细祖细胞对其他因子的反应，表现出参与红细胞的生成作用。例如雄性激素、甲状腺激素和生长激素能增加红细胞生成素的产生，而雌激素具有抑制红细胞生成素生成的效应。

造血组织也是对外部影响因素敏感的组织。限制饲料摄入、营养不良、慢性炎症、毒性增殖性或肿瘤性紊乱，均可能导致造血抑制。对大鼠而言，营养状态是一个重要因素。例如，成年大鼠限制饲料到停止体重增加时，骨髓红系下降 50%、粒系下降 40%、巨核细胞下降 20%；完全禁食 7 天，减少骨髓细胞达 30%。已证明限制食物达到对照组的 25%，持续 2 周时间，出现相对于对照组的红细胞减少症、淋巴细胞减少症、血小板减少症和骨髓坏死。已有报道，在大鼠维持红细胞生成功能方面，蛋白质摄入比能量摄入更重要。

造血功能是一个连续的过程，可以分成几个时期。第一个时期，第一个阶段涉及骨髓内的多潜能干细胞，这些多潜能造血干细胞具有两个主要功能：第一，它们通过自身更新过程维持它们的数量；第二，它们产生具有造血细胞能力的细胞，包括红细胞、粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和血小板。应用一个放射处理过的同源小鼠模型，已经证实大部分已知造血细胞的增殖和成熟。放射处理的小鼠模型，输入供体细胞，在脾内产生造血灶。在大鼠和小鼠的体内试验中，已经证明有可以测量到的干细胞汇集区，将供体小鼠细胞注射进入一个放射处理过的小鼠体内，在脾脏内可以产生通过视觉计数的脾结节。已经证明这些脾结节是细胞集落，并且，在这些克隆内的细胞是能够自我更新和能够分化成为重要细胞系的细胞。

已经证明这些脾结节细胞集落是从一个单一集落多潜能干细胞产生的，它被定义为脾集落形成单位（Colony Forming Unit-Spleen, CFU-S）。骨髓细胞微环境和生长因子影响多潜能干细胞分化成为骨髓或淋巴系列的定型干细胞（多潜能干细胞），进入造血的第二阶段。它们具有弱的自我更新能力，但是，具有分化和发展为成熟后裔细胞的能力。

骨髓干细胞对于粒细胞、红细胞、单核细胞和巨噬细胞，是多潜能集落形成单位（Colony Forming Unit-Granulocytes, Macrophages, Rubriblast, Megakaryocyte, CFU-GMRM）。第三个阶段是在定型干细胞时，受各种生长因子的影响，分化成为系特异性祖细胞。对于巨核细胞（CFU-Meg）、淋巴细胞、红细胞（BFU-E）、嗜酸性细胞（CFU-Eos）和嗜碱性细胞（CFU-Baso）的祖细胞，均存在于骨髓中；而嗜中性粒细胞和单核细胞来源于共同祖先。

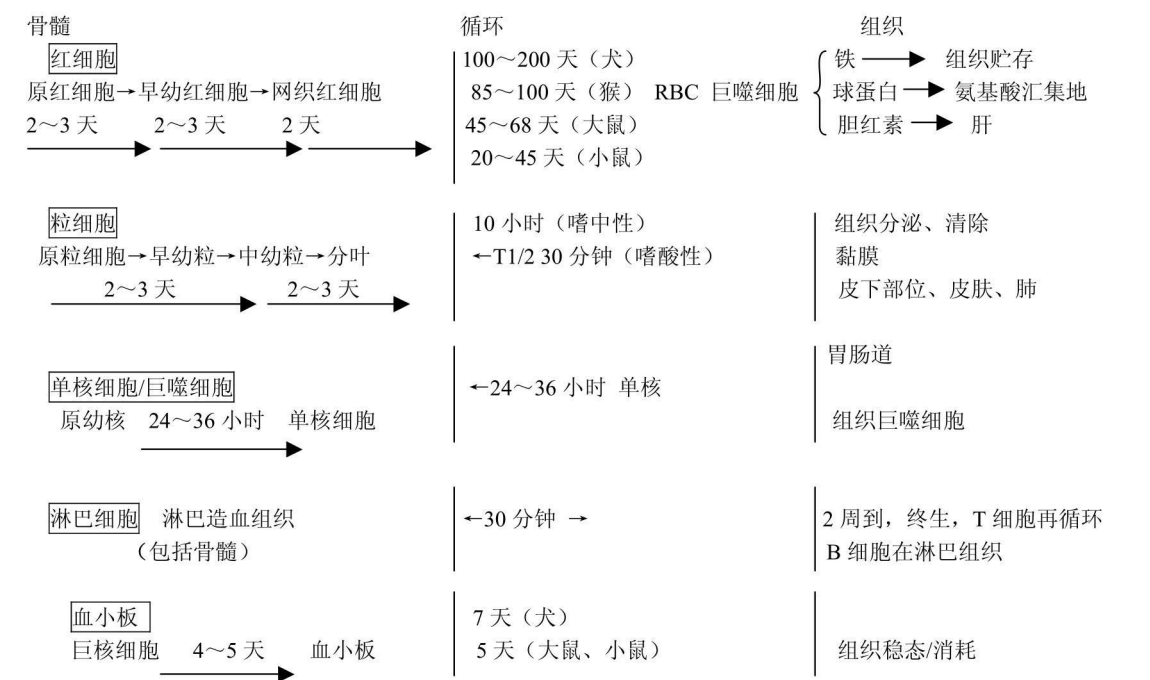
淋巴细胞生成发生在成年哺乳动物的骨髓微环境，B 系淋巴细胞来源于骨髓，其细胞的大小与免疫球蛋白链表达的连续改变有关。大的 B 淋巴细胞前体是早期前体细胞，在细胞浆内含有抗体的重链。大的 B 淋巴细胞前体（ $>10\sim13\mu\text{m}$ ），可以分化为较小的前体 B 淋巴细胞（ $<9\mu\text{m}$ ）。随着基因重排，小的 B 淋巴细胞前体成熟为 B 细胞，它们在细胞浆内表达抗体的 K 和 A 轻链；B 淋巴细胞生成的繁殖和成熟的顺序，受基质细胞分泌的可溶性因子的调节，对骨髓毒性化学

物的干扰敏感。例如苯的多羟基代谢物（如对苯二酚），影响骨髓 B 淋巴细胞生成，引起骨髓 B 淋巴细胞前体阶段的成熟，使 B 淋巴细胞的成熟停止。

T 淋巴细胞生成发生在骨髓衍生的干细胞里，并在胸腺内成熟。有些证据表明，在重新定位于胸腺前，胸腺细胞前体经过一些分化和/或定型。在形态学上，大鼠或小鼠骨髓既没有也不产生淋巴细胞的聚集或结构类似的滤泡，甚至在免疫接种之后也不会发生。

骨髓干细胞和基质细胞具有重要的代谢活化能力，它们含有细胞色素 P450、P448 家族和过氧化物酶。它也能产生反应性氧类，经氧化依赖性机制，它也能活化外来异物。代谢活化能力被认为是骨髓对毒物敏感的原因，如苯在骨髓内被广泛代谢。

三、血液细胞产生动力学、大概的循环时间和寿命



注：除嗜酸性细胞的值表示 T1/2 以外，其他值表示循环的大约时间。

第二节 骨髓的造血作用

一、概述

在成年哺乳动物的整个生命过程中，血液细胞类型均来源于骨髓的早期干细胞的连续分化。全能造血干细胞产生多潜能淋巴干细胞，它是骨髓中的一种多潜能骨髓干细胞。多潜能骨髓干细胞产生一系列逐渐分化、增殖的祖细胞，它具有较弱的自身复制能力，它支持所有非淋巴血细胞的产生。干细胞和祖细胞是在形态学上不能与淋巴细胞区分的单核细胞。当在体外细胞培养时，祖细胞被称为集落形成单位或爆发式形成单位，它们形成多个亚集落。多潜能造血干细胞产生破骨细胞、肥大细胞、树突细胞和朗罕氏细胞的祖细胞。

血细胞的产生，发生在成年动物骨髓中。因为，在这里具有独特的微环境，造血微环境是一个复杂的网络，由各种细胞基质构成。辅助细胞、糖蛋白生长因子、细胞外基质组分，显著



地影响造血干细胞和祖细胞的存活、增殖和分化。基质细胞（包括内皮细胞、成纤维样网织细胞、脂肪细胞、巨噬细胞）和辅助细胞（淋巴细胞亚群、天然杀伤细胞），产生各种各样具有阳性和阴性作用的生长因子。基质细胞也产生细胞外基质组分，除了提供结构支持之外，它将造血细胞和可溶性生长因子结合到基质细胞，使其发生分化和增殖。

除巨噬细胞以外，基质细胞的表现与来源于造血干细胞的细胞明显不同，常见间质干细胞，除网织细胞、脂肪细胞、内皮细胞以外，间质干细胞也产生破骨细胞和肌肉细胞。

造血干细胞和祖细胞的增殖不可能是自发的。它要求有可能是骨髓局部产生的特异造血生长因子的存在或由周边产生的造血生长因子或通过血液转移到骨髓的生长因子（体液转移）。有些造血生长因子称为生成素，如红细胞生成素和血小板生成素，其他生长因子分类为集落刺激因子。根据体外培养的研究结果，又将一些造血生长因子称为白细胞介素。

二、红细胞生成

原红细胞连续从骨髓内的血管外空间分化产生祖细胞，一个中幼红细胞开始一系列分化，产生大约四个细胞，3或4天产生大约16个晚幼红细胞，它不再具有分化能力。原红细胞的分化流程为：原红细胞（Rubriblast/Proerythroblast）→早幼红细胞（Basophilic erythroblast）→中幼红细胞（Polychromatic erythroblast）→晚幼红细胞（Orthochromatic erythroblast）→网织红细胞（Reticulocytes）→红细胞（Erythrocytes）。

早期前体细胞，当应用 Romanowsky 染料染色骨髓细胞涂片时，会出现深蓝色胞浆。由于胞浆内出现许多嗜碱性核糖体和多核糖体，它们活跃地合成血红蛋白链和较少量的其他蛋白质。当这些细胞分化成熟时，整个细胞体积减小，细胞核与胞浆比例下降，核染色体浓缩增加，胞浆嗜碱性下降，血红蛋白逐渐积累，赋予胞浆红的颜色，具有红色和蓝色两种细胞。胞浆具有多染色性，不成熟的红细胞定义为网织红细胞，在晚幼红细胞逐出核后形成。

在犬中，网织红细胞成熟开始于骨髓内，成熟后进入外周血和脾脏。它们在成熟时，网织红细胞逐渐具有可变性，有利于它们从骨髓释放。相对不成熟聚集类型的网织红细胞则从犬的骨髓中释放。

三、白细胞生成

（一）嗜中性粒细胞

在骨髓内，嗜中性粒细胞包括两个汇集区，即增值和成熟汇集区（有丝分裂汇集区），包括原粒细胞、早幼粒细胞和中幼粒细胞，大约在7天的时间内，产生4或5个细胞分支。在这个时期内，胞浆内的主要颗粒是在早期的原粒细胞或早幼粒细胞和特异性颗粒（次要颗粒）内，并在中幼粒细胞内合成，这些主要颗粒被称为嗜天青颗粒。但是，它们没有真正表现出蓝色（天蓝色），而是表现出品红的颜色，一旦核凹进和明显浓缩，前体细胞不再分离分化。成熟和贮存的汇集区（有丝分裂阳性汇集区），包括晚幼粒细胞、嗜中性杆状细胞和嗜中性分叶粒细胞，在这个汇集区内的细胞，通常经过成熟并贮存几天，成熟的嗜中性粒细胞通过血管内皮迁移并进入血液循环。

（二）嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞

骨髓中嗜酸性粒细胞与嗜中性粒细胞平行产生。在骨髓中停留的时间为一周或少于一周，它是成熟嗜酸性粒细胞的一个重要汇集区。

嗜碱性粒细胞与嗜酸性粒细胞具有一个共同的骨髓祖细胞，并产生每一个祖系的特异性前

体细胞。嗜酸性和嗜碱性前体粒细胞，在骨髓阶段是可辨别的，它们的特征是胞浆内出现特征性颗粒。嗜碱性粒细胞与肥大细胞，是否有一个共同的前体细胞还不清楚。肥大细胞与嗜碱性粒细胞相比，嗜碱性粒细胞在骨髓中成熟，肥大细胞前体细胞成熟为肥大细胞则发生在组织中。

（三）单核细胞

单核细胞在骨髓中产生的时间比粒细胞时间短，仅少数单核细胞保留于骨骼中，单核细胞不是终末期细胞，在进入组织后成为吞噬细胞。

（四）淋巴细胞

骨髓干细胞产生 B 淋巴细胞前体细胞和 T/NK 前体细胞，T/NK 前体细胞产生 T 淋巴细胞前体和 NK 前体细胞。

B 淋巴前体细胞，在大部分哺乳动物骨髓中产生 B 淋巴细胞，B 淋巴细胞迁移到淋巴结的皮质区，再进入空肠 payer's 结的滤泡中，也进入哺乳动物脾脏的滤泡中。T 淋巴细胞前体细胞离开骨髓，迁移到胸腺，在胸腺微环境的影响下，发育成熟为 T 淋巴细胞。在胸腺中成熟之后，T 淋巴细胞分布到哺乳动物的淋巴结、脾脏的动脉周围的淋巴鞘和空肠 payer's 结的滤泡区域。

NK 细胞主要在骨髓中产生和成熟，NK 前体细胞也在胸腺中出现。

（五）血小板生成

哺乳动物的血小板，是由骨髓中称为巨核细胞的多核巨大细胞产生的，开始于原巨核细胞，3 到 5 个核的倍增，分裂停止时成为成熟巨核细胞，其染色体有 8 至 32 个。在头两次复制时（早幼巨核细胞），可以观察到单独的细胞核，当形成成熟巨核细胞后，可以看到大量多分叶核。在每一次复制后，细胞体积均增加，导致巨核细胞比所有其他骨髓细胞更大（除破骨细胞之外）。早幼巨核细胞的胞浆具有浓的嗜碱性，随着巨核细胞的成熟，嗜碱性下降、颗粒数量增加。巨核细胞位于血管窦外，构成血管窦的一部分，巨核细胞的胞浆形成和延伸到血窦中，这些表现出柱状的前血小板，在窦内和全身循环中破碎成为血小板。

第三节 骨髓细胞学检查

一、为什么进行骨髓细胞学检查

在下列情况下，需进行骨髓细胞学研究：①当发现外周血细胞计数异常时；②最常见的是持续性嗜中性粒细胞减少症；③不能解释的血小板减少症，再生障碍性贫血；④增殖异常，骨髓检查血小板或白细胞增加；⑤异常的血细胞形态，在血液中出现不能解释的不成熟细胞，如多染色质的有核红细胞；⑥在炎症部位出现嗜中性粒细胞的左移；⑦有时为了检查肿瘤的进展情况，如淋巴瘤和肥大细胞肿瘤；⑧评价体内储存的量；⑨评价细胞溶解性骨损伤；⑩不知原因导致动物发热的疾病；⑪不能解释的体重降低，不能解释的不舒服；⑫确定高蛋白血症的原因，如继发于多发性骨髓瘤、淋巴瘤、黑热病、全身真菌感染；⑬确定高钙血症原因。

二、骨髓评价方法概述

评价造血系统有多种方法可以选择，包括外周血细胞学检查，如全血细胞计数和分类计数、骨髓细胞涂片检查、股骨骨髓总细胞计数、骨髓切片组织病理学评价、骨髓细胞流式细胞仪分析、骨髓细胞培养等。

骨髓组织病理学和外周血细胞检查，在毒理学安全性评价研究中，是一个常规检查项目。



应用常规方法制备骨髓细胞学涂片并保存，当发现血液细胞学计数发生改变和未确定病因时，评价骨髓细胞涂片。

骨髓组织病理学研究是一个主观评价方法，可以评价骨髓构造、评价细胞结构、评价骨髓粒系细胞与红系细胞的比例（不太敏感）、评价细胞祖系、评价铁贮存和其他特征，如肿瘤、炎症、色素、感染等。

骨髓细胞涂片评价和/或总股骨骨髓细胞计数，提供定量结果。比较好的细胞形态学可以测定骨髓粒系细胞与红系细胞的比例和骨髓细胞成熟指数。

成年犬的骨髓活检部位，一般选择在髂骨顶部、胸骨、近端肱骨、股骨大转子窝的沟处或肋骨等。股骨骨髓的中央腔一般被脂肪替代。在大鼠和小鼠体内，红细胞具有较高的转换率，由于它具有较短的循环半衰期，这意味着大部分骨髓腔空间仍保留成群的骨髓细胞。啮齿类动物的骨髓细胞也出现在胸骨和肋骨。一般骨髓采样部位选择在肱骨和近端股骨，不管动物年龄，在这些部位的骨髓仍保留造血活动。例如在 Fisches 大鼠，从 4 月龄到 2 年龄胸骨、肋骨、肱骨和近端股骨，大约 68% 仍具有相当类似的骨髓细胞结构；近端股骨和近端胫骨，大约 61% 骨髓细胞结构是类似的；不管年龄，远端胫骨显著缺乏造血活动。一般认为正常犬骨髓含有 50% 的脂肪和 50% 的造血组织，大鼠和小鼠大约 70% 到 80% 的骨髓是造血组织。犬的骨髓细胞分布占骨髓空间的 20%~80%，依年龄和采集的方法不同而各异。Fisches 大鼠，根据年龄和解剖部位不同，造血细胞所占的平均骨髓空间的变化在 33%~88%。在该研究中，最年轻的小动物具有最高的骨髓细胞数，例如不管采集部位和平均骨髓细胞结构，在年龄为 2 个月龄时为 80%，年龄在 2 岁龄时，细胞结构下降到平均的 66%。

通常在脱钙、石蜡包埋、H-E 染色的骨髓切片中，可以看到更多成熟期的红系细胞、粒系细胞、脂肪细胞、肥大细胞和巨核细胞。但是，同时可以观察到干细胞、不成熟骨髓红系、淋巴系、巨核系细胞和基质细胞，也可以评价造血活动和粒系/红系的比例。红系组分细胞较小，圆形、胞浆呈浓及深的嗜碱性颗粒、胞浆嗜碱性，随着它们的成熟减慢，嗜酸性也增加。粒系细胞具有大的蚕豆状核，具有较少的嗜碱性，胞浆比造血红细胞具有较多的小泡。巨核细胞容易辨认，它们的体积较大，具有较多的分叶核。在骨髓细胞涂片中，可以发现成熟淋巴细胞，而在脱钙、H-E 染色的骨切片的骨髓中，淋巴祖系细胞的标志含糊且不容易辨认。

三、骨髓细胞涂片检查

骨髓细胞可以从暴露的骨髓获得，也可以从骨中挤出或用穿刺针采集。骨髓吸出活检技术有以下几个禁忌症：①注意在固定、镇静和麻醉动物时，产生的风险比活检程序中大；②血液稳态改变，导致活检后出血是一个潜在并发症；③活检采样后的感染是另一个并发症。但是，这些并发症均可以控制和避免。

一般将获得的骨髓加入同源血清或加入 EDTA 的生理盐水中湿化，制备涂片。骨髓吸出细胞学诊断，依赖于适当采集骨髓细胞标本及制备高质量骨髓细胞涂片。在大多数情况下，针刺活检只需要局部麻醉。有时，应用镇静剂并固定，活检部位去毛发、用抗菌剂消毒局部皮肤并进行局部麻醉；有时，需要全身麻醉，减少动物紧张的影响；在局部皮肤做一个小切口，使针头通过皮肤，进行骨髓穿刺取样。注意应用无菌针头和戴无菌手套。骨髓吸出要按时间安排实施，在同一时间进行。用于吸出骨髓的活检针头，一定具有一个可移出的探针，放在针头内，一直到针头插入骨髓腔内，以防止针头内径对皮质骨的破坏。应用 16 或 18 号针头，即长 2.54 厘米到 3.81 厘米的穿刺针头。当针头插入骨髓腔后，旋转针头，一旦确定针头在骨髓腔内时，移出探针，将一个 12ml 或 20ml 的注射器连接到针头上，注射器内最好含有几滴 5% 的 EDTA

抗凝剂，通过快速拉注射器的栓，使注射器内出现尽可能少的几滴血液，以减轻负压。完成采集后，快速移出，进行骨髓细胞涂片。如果注射器内没有抽出骨髓，换一个骨髓采集部位再次进行骨髓采集。

对于犬骨髓细胞涂片，应从犬的髂骨顶端、髂骨的翼部、胸骨、近端肱骨、股骨大转子窝的沟处采集骨髓细胞。犬的第3、4、5胸骨可用于活检骨髓细胞采样，但是，存在穿刺进入胸腔损害胸腔内结构的风险，故应该采用短的活检针头并谨慎操作，使针头在骨中央，控制出血，减少气胸，防止心脏破损。当获得骨髓细胞颗粒后，放在含有EDTA的生理盐水中，再将其放在载玻片上。骨髓颗粒为小的白色颗粒，在血污染的骨髓细胞吸出物中，应用吸管将骨髓吸出放在载玻片的一端，垂直放置，骨髓细胞颗粒附着在玻璃片上，而血液顺势流下。再放平载玻片，取另一个载玻片，交叉放在骨髓细胞颗粒上，垂直放于第一张载玻片，使其扩散成斑点，轻压、产生一个涂片。在没有加EDTA的骨髓细胞涂片的制备中，骨髓标本采集后，应立即涂片，一定要在几秒钟之内制备涂片。因为骨髓细胞会快速变性，特别是粒细胞，也可以应用从尸检前和尸检后采集的骨髓制备涂片。尸检时，应该尽可能快地采集骨髓标本（在几分钟内）。对于犬，应该在死后30分钟内，采集骨髓细胞标本。从死亡动物吸出的骨髓细胞，质量较差，骨髓细胞容易凝集，在吸出和涂片过程中，细胞容易溶解。如果从安乐死动物身上采集骨髓，建议动物用静脉注射巴比妥类麻醉，骨髓采集后实施安乐死。

用空气干燥涂片，然后应用Romanowsky-type染料染色涂片，如瑞氏、吉姆萨、Diff-Quik染色，染色时间根据经验确定，因为骨髓涂片比血涂片厚，至少比血涂片染色时间长1倍，确保适当染色。含有骨髓颗粒的涂片，具有蓝染的物质，肉眼可以看到。当镜检时，颗粒含有血细胞前体细胞和基质组分，应用乙醇固定，脂肪被溶解掉，在颗粒中表现出不同大小、没有着色的圆形区域。这也可用prussian染色铁，评价铁的贮存，此外，为了帮助区分白血病类型，也需要加入特殊染色。

福尔马林可能影响骨髓细胞涂片的染色质量，应该采取谨慎的态度，应避免在染色之前骨髓和骨髓涂片接触到福尔马林或其蒸气。

应用100倍目镜，评价骨髓细胞系和分类计数骨髓细胞。骨髓细胞分类计数，最好计数500个及以上细胞，但是，也可以应用较少的计数，如250个细胞的分类计数。骨髓细胞分类计数，应该根据细胞类型，如粒系、红系、巨核系、淋巴细胞系、巨噬细胞等来分类；也可以根据评价骨髓细胞分化时期，如原红细胞、早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞，每类细胞所占的相对百分比来分类。此外，还要计算骨髓粒系细胞与红系细胞的比例和成熟指数。

四、骨髓细胞组织病理学评价方法

（一）骨髓标本固定

如果是从尸体采集骨髓标本，应该在动物死后，尽可能快地采集骨髓标本。固定溶液要通过交联蛋白质稳定组织，交联可以导致蛋白质变性，固定影响骨髓细胞形态学、细胞化学或标本的免疫组织化学评价的质量。它的优点是简单易行，一般应用10%中性福尔马林缓冲固定液。对于常规H-E染色的骨髓切片，在组织处理之前，不需要进行特殊处理。10%中性福尔马林缓冲液固定组织，可以应用于冰冻切片和脂肪细胞评价。对于免疫组织化学应用的标本，应用10%中性福尔马林缓冲固定液，长时间固定可能影响其评价，因为中性福尔马林缓冲固定液导致连续性氨基酸组的交联、蛋白质结构改变，最终导致抗原决定簇的丢失。在固定组织12小时之后，转移组织到70%乙醇中，可以减少固定相关的影响。

Zenker's-type溶液（如Zenker's 醋酸B5、Helly's）是常推荐应用的固定液，常用于骨髓切



片的固定。固定液现配，组织在固定之前冲洗，应用 Litgol's 碘处理，以去除色素。骨髓组织固定 1~2 小时后，转移到酒精中，使组织变硬，长时间固定可以使组织变脆。当应用特殊染色时，组织中可能形成精细沉淀物（如银染色）。此外，固定液组分氯化汞是有毒的，并且容易通过皮肤吸收。以氯化锌为基础的 Zenker's 固定液，具有类似于 Zenker's 固定液的特征。Zenker's 类型的固定液，对于免疫组织化学方法是有用的，它们作为一个媒染剂，可以改善 Giemsa 染色剂对细胞核染色的细节。

Bouin's 固定液组织固定过夜，固定后水冲洗，在 70% 的乙醇中贮存，组织变硬和延长固定使组织变脆。苦味酸组分使组织染成黄色。因为 Bouin's 固定液含有醋酸，具有脱钙作用，这个特性可以用于长期固定和定期换液（每周一次），它不能很好地保存精细形态学细节。但是，可以作为媒染剂，用于改善碱性胺蓝的染色。

（二）脱钙

对于石蜡包埋骨髓切片，在切片之前，一定要对骨髓标本脱钙。而对于树脂包埋标本不需要脱钙。有大量脱钙剂（如酸、络合剂、树脂）和方法（如沉浸、超声、微波、离子交换）适用于骨髓标本的脱钙。如果需要保存酶反应性和抗原部位，重要的是选择脱钙方法。

对于较大的标本，由于脱钙对组织形态学有些损害。这些损害是不可避免的，特别是应用酸脱钙剂时，有机酸和矿物酸是常用的骨髓标本脱钙剂，有机酸（如蚁酸和醋酸）比矿物酸（如盐酸和硝酸）脱钙慢，矿物酸是常用的快速脱钙的方法。用酸对组织过度脱钙，特别是矿物酸，可以导致组织破坏。因此，用酸脱钙的组织，不应该过度延长脱钙时间（如超过一周）。适当脱钙，使酸均匀分布在骨标本的周围，轻柔搅动脱钙液体使其分布均匀，如轻柔混合（如混合器或摇床）或空气起泡等均可应用。此外，为了适当脱钙，酸脱钙剂要求按一定时间换液（如每天）。通常，对于需要对酶或免疫染色的标本，不推荐酸脱钙剂。酸脱钙剂特别是矿物酸，均会下降形态学质量，使 Giemsa 染色丢失嗜碱性染色结构，有时会达到不能接受的程度。

络合剂，如 EDTA，也是骨髓标本的常用脱钙剂，脱钙过程比酸慢。EDTA 脱钙剂被推荐用于酶和免疫染色程序的标本脱钙。EDTA 的作用依赖于 pH 值，如 pH 值越高，脱钙速度越快。因为高碱性 pH 也可以引起组织破坏和细胞内结构性物质的丢失，也影响酶和免疫染色的质量，所以，应用 EDTA 脱钙剂时，一定要避免 pH 值过高。

将骨标本放入有足够量的络合剂中，不需要更换溶液。络合剂脱钙剂可以单独应用或与沉浸、微波、超声或电解方法结合应用。对于沉浸技术，将骨标本放入室温环境的脱钙剂中，这是最慢的方法，但这只会引起最轻的组织损害。过度脱钙对 H-E 染色没有影响。

微波脱钙技术是应用微波炉，在容器内将组织侵入脱钙剂中。放入微波炉加热，脱钙过程被加速，特别是在应用矿物酸脱钙时。但是，加热容易损害组织标本，特别是在大于 45℃ 时，可以应用 70% 的火力，20 分钟间隔冷却，以减少热效应对组织的损害。当看到暗的骨髓组分、稀疏和污染的核时，可能与热损害有关。

超声脱钙技术，是将骨标本放入含有脱钙剂的超声机内，超声处理骨标本，脱钙速度加速，适合于 H-E 染色。可能的细胞学改变类似于应用微波方法处理的组织。

电解脱钙方法，是将骨标本放入一个脱钙剂中，放两个电极（阴性和阳性），通一个弱的电流，促进脱钙作用。该方法比浸入法稍快，染色比侵入法好。但是，该方法需要精心操作，不适用于大量标本，并要求频繁换液，可能会发生热损害。

离子交换脱钙方法，应用钙螯合树脂，结合酸脱钙剂。该技术比侵入法快，表现出比 H-E 染色组织状最佳的形态。将树脂放入容器底部，然后加入酸脱钙剂（典型的是有机酸如蚁酸），

将骨标本浸入脱钙剂中。因为树脂螯合钙是不能用来确定终点的化学沉淀法的。树脂可以回收再用，不需要每天换液，由于树脂的来源和花费问题，该方法不适用于大量的标本。脱钙应该在较小容器内进行，回收的树脂要充分冲洗。

确定骨脱钙程度是一个重要步骤，过度脱钙可能导致组织破坏，脱钙不足又会导致差的脱水和渗透，最终影响切片质量。

X 线检查法是最精确的方法，但是，需要适当的设备。此外，骨标本应用含有汞或其他金属盐固定液处理的标本，因重金属盐致使放射线不易穿透，X 线不能应用。

化学沉淀方法（如草酸钙沉淀）是可靠且较容易的方法，适用于酸脱钙剂。这个方法也可以应用于 EDTA 脱钙的组织。机械弯曲或探针检查是一个主观评价方法，也是简单易行的方法。但是，此法不可靠，此操作可能干扰构造或移动软组织组分。也可以通过切片标本确定脱钙程度。

（三）组织处理和染色

对于石蜡包埋切片、H-E 染色骨髓组织，是常规应用的组织学评价方法。但是，H-E 染色不能提供造血细胞分化程度，这是因为切片厚度是一个重要影响因素。3 毫米切片比厚的（≥5 毫米）切片可以提供比较好的细胞形态学细节。Romanowsky 染色的细胞形态非常好。Giemsa 染色的切片比 H-E 染色更具有好的形态学细节，比应用 Romanowsky 染色涂片更容易。Giemsa 染色，酸脱钙组织会导致嗜碱染色结构丢失。而应用络合剂类型的脱钙剂，可以改善 Giemsa 染色，应用树脂包埋，提供一个重要形态学改变，不需脱钙，减少浓缩、人工伪迹、脱钙相关细胞细节的丢失。容易制备薄切片（≤3 毫米）改善细胞形态学质量，但是，包埋耗时、工作量大，花费大。应用普鲁士蓝染色，用于评价铁贮存，但是，脱钙剂或固定液中的酸可能冲洗掉铁，因此，组织铁可能被低估。

（四）骨髓标本切片的组织病理评价

骨髓是哺乳动物最大的器官之一，是重要的造血器官。因为造血系统是药物暴露的潜在靶器官，血液和骨髓评价是毒理学安全性评价的主要组成部分。骨髓组织切片的形态学评价，可以提供骨髓组织构造的信息，如细胞结构、细胞学、血管、基质改变、炎症、坏死等；也可以进行铁贮存的评价和其他特征的识别，如色素、感染、增殖或肿瘤等，结合全血细胞计数，骨髓组织学可以发现单独用外周血细胞检查不能发现的造血系统方面的改变。

骨髓对药物的反应，可能是该化学物的直接作用或它的代谢产物的作用或通过间接损伤其他器官系统或代谢通路，反映这些作用的骨髓损伤，这些，可以从石蜡包埋的切片中观察到。对于骨髓的各种各样的损伤，应该注意评价的一致性和标准化诊断术语。骨髓片的质量、结果解释等，受各种与标本采集和处理相关变异的影响，动物种类不同、标本采集部位、动物年龄也存在差异，要求同时针对对照组检查。

1. 骨髓细胞发育紊乱——细胞数量增加

在骨髓组织切片中，有核细胞的增加表明对增加细胞需求的反应，在造血细胞中最明显，因为在 H-E 染色的切片上，不能明确地辨认淋巴细胞。造血细胞增加，如高细胞数、造血细胞增生或增殖，通过评估脂肪与造血细胞占骨髓腔的百分比以及同时与对照组动物的百分比值进行比较。在啮齿类动物，如果增生明显，造血细胞可能充满骨髓腔的空间，甚至通过营养孔道扩张。

在成年犬身上，当骨髓腔空间大于 75% 的部分被造血细胞占有时，应该被认为是骨髓增生。造血细胞增加，可能涉及所有细胞系（全细胞增殖）或个体细胞系。当仅涉及一个细胞系时，



造血细胞增加，应该表明被影响的是某特定细胞系，如粒系或红系。此时细胞形态通常没有改变，成熟顺序是同步的。尽管有散在非典型细胞，如双核中幼红细胞、巨大叶嗜中性粒细胞、Howell-Jelly 小体等。

根据受影响细胞系，也可能存在骨髓粒系和红系比例的明显转化。例如红系细胞增加，可能降低评估的骨髓粒系和红系比例。骨髓的其他细胞组分，如肥大细胞和巨核细胞，也可能在数量上有所增加。

在老龄大鼠骨髓切片中，也可以观察到肥大细胞的增加（肥大细胞增生病）。在大鼠和小鼠的骨髓切片中，观察到在巨核细胞内嗜中性颗粒的伸入运动，与给予生长因子或与慢性失血或炎症导致造血细胞活化有关。尽管组织切片可以提供受影响细胞系的证据，对于精确确定骨髓粒系和红系比例和成熟的同步性，必要时进行涂片或骨髓细胞离心涂片。

在大部分种属中，红细胞生成细胞的增加（红系增生），通常被认为是贫血的一种反应，如失血的早期或溶血性贫血；也存在没有受影响的骨髓细胞增生（即高细胞数量）和成熟的同步。因此，可能存在原红细胞和早幼红细胞数量的增加，中幼红细胞和晚幼红细胞占优势。骨髓细胞分类计数证明骨髓粒系和红系比例下降是由于红系细胞数量的增加，在犬的骨髓切片中，红系增生发生于原发和继发性红血球增多症。骨髓改变在两种情况下是类似的，可能是红系和巨核细胞增加的高细胞数，也可能出现粒细胞增加，骨髓血铁质含量也可能下降。

在啮齿类的骨髓组织切片中，红系增生可能明显也可能不明显。增生的发展依赖于贫血的类型、时期、严重性及动物的年龄。在啮齿类的骨髓切片中，特别是在小鼠的骨髓切片中，红系细胞的增加经常在脾脏观察到，有时也在肝脏看到，它是对贫血的反应。

粒细胞生成细胞的增加（骨髓增生）经常与炎症反应有关。在组织学上，评估的骨髓粒系和红系比例增加和成熟同步，经常不受影响。尽管不成熟形式的增加，粒细胞占优势，由晚幼粒细胞和分叶粒细胞组成；随着急性炎症反应，骨髓分叶中性粒细胞数量，由于向外周血释放而下降。但是，可以看到粒细胞正常分布的骨髓增生和白血病反应样增生。由于粒细胞生成细胞的增加，定量骨髓细胞分类计数将证明骨髓粒系和红系比例的增加。

骨髓巨核细胞的增加，经常发生于血小板消耗增加或破坏增加的情形中。但是，巨核细胞增加，也可能发生在一些反应性贫血中。据报道，Balb/c 小鼠，若每天腹腔注射聚乙二醇 rHuMGDF 两周，导致骨髓巨核细胞增生，粒系增生和红系细胞下降。在巨核细胞增生的情况下，可以观察到巨核细胞的高倍体；尽管骨髓粒系和红系比例没有改变，在骨髓细胞分类计数中，可以发现巨核细胞的百分比增加。

在 H-E 染色的组织切片上，很难发现骨髓淋巴细胞的增加。但是，有淋巴瘤时的情况除外。而在 Romanowsky 染色的骨髓涂片中可以识别出淋巴细胞的相对改变。

2. 骨髓细胞发育紊乱——细胞数量下降

在骨髓切片中，有核细胞的下降，有几个描述性术语。如红细胞生成细胞损耗、细胞数降低、下降和萎缩。红细胞生成细胞下降，可以涉及所有细胞，即全血细胞减少或个体细胞系减少。在 H-E 染色的骨髓切片中，通过评估骨髓腔内红细胞生成细胞的百分比以及将这些发现与相应的对照组比较，确定红细胞生成细胞下降。当骨髓腔空间含有的红细胞生成细胞少于 25% 时，被认为是细胞减少。骨髓全细胞减少是指外周血全细胞减少和骨髓腔内由脂肪替代造血组织。一个细胞系被影响时，造血细胞下降应该表明涉及的祖系。当既影响粒系也影响红系时，骨髓粒系和红系比例改变。例如骨髓粒系和红系比例随红系细胞减少而增加，而随粒系细胞减少而下降；而且，存在同步成熟，有利于细胞后期的发育。此外，尽管组织学切片可以提供整

个受影响的证据，但是，骨髓涂片或细胞离心涂片，对于精确评估骨髓粒系和红系比例和成熟的同步性仍是必要的，如成熟指数。

随着巨核细胞单纯性的下降，巨核细胞数量减少，可能存在有利于细胞发育和巨核细胞减少早期的成熟同步性，而骨髓粒系和红系比例没有被影响。从全血细胞计数观察到的再生性贫血，经常反映出与红细胞减少或抑制有关的骨髓红细胞生成细胞的下降。

据报道，骨髓内红细胞生成细胞的下降发生于以下情况，被认为是一种直接作用。如雌激素、氯霉素、抗病毒制剂、化疗药等；具有间接作用的药物如肿瘤坏死因子、硫酸铜等；此外，各种各样非骨髓条件如慢性炎症、肿瘤、营养不良、甲状腺低下、肾上腺皮质功能减退、慢性肾疾病或慢性肝疾病，均可以导致红系生成细胞的抑制。形态学上，骨髓切片可以出现低细胞数骨髓粒系和红系比例可能增加的情况，也可能出现成熟顺序向细胞发育的后期移动的情况。在与慢性炎症相关的贫血中，骨髓的细胞模式和红系细胞形态经常是正常的，但是，在染色时可见铁增加，骨髓巨噬细胞铁含量增加（血铁质），以及观察到作为 H-E 染色的金黄色/棕色色素或作为用普鲁士蓝染色的蓝色颗粒。这种骨髓铁含量的增加，可以用于区分慢性炎症性贫血与铁缺乏性贫血，缺铁性贫血时骨髓铁含量会下降。在慢性肾疾病性贫血时，骨髓可能是红细胞正常到低细胞性贫血。而在慢性炎症性贫血时，骨髓铁不增加。药物或化学物诱导的粒细胞生成细胞下降，出现的频率少于与红系相关的细胞。但是，它们发生于各种各样化合物中，包括化疗药物、抗生素（如氯霉素、先锋霉素）、抗高血压药物、保泰松、苯巴比妥和灰黄霉素。而与抑制骨髓产物相关的获得性血小板减少症，与各种各样药物如化疗药物、抗生素、抗炎药、抗惊厥药、雌激素等的使用有关。

先天或饮食限制引起的所有造血细胞的下降和明显增加骨髓腔中脂肪含量的细胞数下降，骨髓粒系和红系比例没有被影响。例如大鼠限制饮食到停止体重增加，引起红系、粒系、巨核细胞前体细胞分别下降至 50%、40%、20%。

在另一个研究中，轻度（对照组的 75%）和中度（对照组的 50%）饮食限制两周，引起骨髓腔中央的脂肪明显增加，而骨髓的造血组织降低，造血组织的分布和表现仍没有出现明显改变。这些限制饮食研究，没有提供淋巴系细胞改变的信息。涉及所有造血细胞系的严重下降，被定义为骨髓萎缩、发育不全性贫血或发育不全性全细胞减少。在与药物相关的所有细胞系的降低中，它的特征是在骨髓中，所有造血细胞系的细胞数量中，以及血液中全血细胞减少。骨髓全细胞数的减少，不应该与以下情况混淆，如单纯性红细胞发育不全（仅红细胞生成被抑制）、骨髓组织生成紊乱（如骨髓纤维化和白血病）或骨髓增生异常（骨髓表现为正常或增生）。在 H-E 染色切片中，发育不良骨髓表现为缺乏造血细胞，主要由血管窦和脂肪组织构成，可以观察到散在的淋巴细胞、浆细胞、巨噬细胞和肥大细胞。在少数严重的病例中，可以发现小的、散在造血细胞岛。但是，在一般情况下，占据的骨髓腔小于 25%，单纯红细胞发育不良作为一种红系前体细胞的严重降低，但是，全部骨髓细胞可能没有被影响，当粒细胞和血小板不受影响时，骨髓粒系和红系比例显著增加和血铁质增加。就大鼠而言，术语“萎缩”被应用于描述骨髓细胞数明显下降的骨髓损伤。它是一种不常见的、自发的、发生在成年大鼠身上，特别是发生在雌性大鼠身上的损伤，表现不具有临床意义。萎缩的特征是，单灶或多灶性损伤，由分界清楚的区域造血细胞的减少、增加或减少的脂肪细胞以及显著的网状基质构成。因为，在一些情况下，巨噬细胞数量增加，认为这种损伤和局灶性肉芽肿有一定关系，在老年大鼠或与管理有关的年轻大鼠，体重降低或增加，特别是在濒死大鼠身上，可以观察到弥漫性萎缩。



3. 红细胞生成细胞异常

骨髓造血细胞紊乱涉及化学处理和营养不良,可能涉及个体细胞系(如异常红细胞生成、异常粒细胞生成、异常血小板生成)或细胞祖系的生成异常。异常红细胞生成,可以通过观察红细胞生成细胞的多核、核碎片、巨幼红细胞生成或环状高铁红细胞的生成来证实。

粒细胞生成细胞的特征,可能包括巨大形状、核低分叶或高分叶、奇怪的核型、核异常数目、异常大小或原始颗粒的特征。

血小板生成异常,可能由小的或大的巨核细胞构成,多倍体增加、出现小的分散的断片核。

术语“骨髓发育不良综合症”,用于描述一组或一个或多个细胞减少相关的一组紊乱。骨髓造血细胞发育不良性改变,趋向于发展为急性骨髓白血病,它难于与一些营养缺乏相区分,如VB₁₂、VB₆缺乏、难于与药物引起的发育不良区分,如铅、氯霉素。

犬的骨髓发育不良综合症,在骨髓切片上,具有以下特征:从正常细胞到细胞数量增加的情况下,骨髓粒系和红系比例增加,所有细胞均出现发育不良性改变。在骨髓涂片中,发育不良特征容易识别,而在骨髓切片上的特征不太清楚,包括一些改变,如早期红系细胞和/或粒系前体细胞数量增加,多核红细胞生成细胞或核叶/核极改变、红系细胞的巨幼红细胞改变、高铁红细胞生成、小的或大的低分叶巨核细胞、低或高分叶粒细胞前体细胞数量下降、大小和/或嗜酸颗粒的着色特征。

在慢性铁缺乏症中,骨髓切片的血小板发育不良,其特征为:细胞数量增加(与红细胞增生有关),骨髓粒系和红系比例小于1、晚幼红细胞缺乏胞浆、粗糙的细胞边缘、不一致的胞浆嗜碱性颗粒。此外,在铁缺乏骨髓中,缺乏可染着铁的高铁红细胞的数目下降。有些化学物(如铅)感染铁代谢和亚铁血红素/血红蛋白合成。在线粒体内,铁蓄积并能显示铁染色物。

红细胞前体细胞,含有铁的线粒体,在核内出现环状,被定义为“环状高铁红细胞”以及该损伤被定义为“高铁红细胞样改变”。

4. 骨髓基质细胞改变

骨髓基质细胞损伤的诊断,包括基质细胞增生、骨髓基质细胞增殖、骨髓纤维化性骨髓营养不良和纤维化性骨损伤。这里描述的骨髓发育不良综合症,也应该归类在这类骨髓损伤中,因为脂肪细胞被认为是基质细胞群的部分;局灶性脂肪过多症,也被认为是基质细胞的改变。

(1) 局灶性基质细胞增生

据报道,局灶性基质细胞增生偶尔在F344大鼠中观察到,其特征是难与局灶性萎缩相区分的小损伤。此外,在有些情况下损伤明显,含有暗淡空泡化的胞浆、圆形小泡状核和单一核的细胞。尽管核形描述不同,这种损伤,在组织学上类似于骨髓基质增生。

(2) 骨髓基质增生

该术语用于分类F344大鼠一种罕见、不清楚的增殖性损伤,它被描述为未知起源细胞的散在性增殖,可能是基质网状细胞或组织细胞。该增殖的特征是不明显分界的、一般性的细胞群,具有丰富精细空泡化细胞浆,有时含有铁阳性染色的包含物,圆形到卵圆形式,稍有不规则的小泡状核、单一明确的核。存在一种银染色阳性的精细的网络,但是,三色染色阳性,围绕在细胞周围的基质,偶尔发现多核细胞。仅观察到少数、有些分裂的外形和小的或非细胞成分,这种增殖仅限于骨髓腔,可能是多中心、涉及轴向和长骨。这种损伤没有完全描述其特征,认为它不应该与骨髓组织细胞瘤混淆。通常,组织细胞瘤具有更多胞浆、多呈多形性、较少的胞浆空泡、丰富多核化的巨大细胞,涉及多个细胞,如肝脏、脾脏和肺脏等。