

# 临床血液学实验室诊断进展

朱忠勇

临床血液学实验室诊断技术是最早应用于实验室诊断的主要部分。20世纪50年代,我国临床医学检验室开展的临床检验,绝大部分是血液学检验项目。一架显微镜、几支吸血管、一块血细胞计数板、一个目视比色计加上一些玻璃片、染色液等,就是血液学检验的全部“家当”<sup>(1)</sup>。建立在这些简陋设备基础上的血液学检验,为早期的血液细胞形态学知识的普及打下了基础,并为很多血液病和非血液病的诊断做出了贡献。其中有些实验诊断方法至今仍然是经典的方法。然而,毋庸讳言,这些以手工为基础的传统方法,大多数工作效率低、劳动强度大。由于实验室手段落后,方法的精密度和准确度都相对较差,难以满足当今临床诊断的需求。

随着医学科学技术的发展和各学科的相互渗透,当代的临床血液学检验已发生根本性变化。在检验科室内,它已经是一个业务内容广泛、拥有大量自动化精密仪器、由许多具备血液学基础及临床知识和娴熟技术的人员组成的临床专业科室。其业务内容已扩展到包括血细胞计数与形态学分析、红细胞病理相关分析、白细胞病理相关分析以及血栓与止血相关分析等方面。

1. 血细胞计数及形态学: 由于实验室检测的自动化,以往的所谓“血常规”正被检测参数更多的全血细胞计数(CBC)所取代。最新一代的血液分析仪,除了通常的CBC项目和白细胞分类计数以外,还可直接计数网织红细胞,包括网织红细胞血红蛋白含量(CHr)和表示网织红细胞成熟程度的多项指标<sup>(2)</sup>;直接检测有核红细胞数,并可从白细胞总数中自动扣除有核红细胞,以及准确计数血小板总数和计数大型血小板数等<sup>(3)</sup>数十个参数。它不仅使十分繁琐的红细胞比积(Hct)测定和MCV、MCH和MCHC计算成为“常规”项目,而且使过去表示红细胞大小的分布曲线(Price-Jones曲线)成为历史。因为现代血液

分析仪作为常规检测的红细胞分布宽度(RDW),比Price-Jones曲线反映红细胞大小分布更为精确和直观<sup>(4)</sup>。如果将MCV、MCH、MCHC、RDW等5项,结合网织红细胞的多项参数综合分析,必要时再辅以血片红细胞形态学观察,有经验的血液病医师,基本上能较准确地进行各种贫血分类和鉴别诊断<sup>(5)</sup>。此外,这类仪器在白细胞分类检测百分比时,也报告绝对数。各种白细胞所占百分比是一个相对数,其局限性显而易见。当前不少血液学专家提倡今后只检测各种白细胞的绝对数,因为那才是反映血液中某一细胞真实含量的科学指标。

2. 红细胞病理相关分析: 除了上述由血液分析仪给出的各项红细胞指标外,显微镜下的红细胞形态学观测也十分重要,但是现今一般血液检验者对此往往不够重视。Williams血液学第6版将经细胞形态分为12类,17种,并介绍了每种形态与疾病的关联,可见这方面有多么丰富的内容<sup>(6)</sup>。其他与红细胞疾病相关的检验还有:与遗传有关的溶血性贫血和高铁血红蛋白血症患者红细胞内各种酶的测定、异常血红蛋白分析和红细胞膜骨架蛋白等的检测。以往分析这些蛋白质,多采用繁琐的生物化学法,耗时、费钱、技术要求高;虽然有一部分后来有了专用的商品试剂,但也难以推广。由于这些蛋白质的基因序列绝大部分已查明,目前生化方法正逐步被已相当成熟的分子生物学方法(如PCR、核酸分子杂交,基因或蛋白质芯片技术等)所取代<sup>(7-10)</sup>。

3. 白细胞病理相关分析: 当前,用自动化血液分析仪进行白细胞分类,虽然已经取得长足进步,但尚未达到完全取代手工镜下分类的程度。它还不能准确辨认各类幼稚细胞、原始细胞以及诸如中性粒细胞的“毒性”变化和“不典型淋巴细胞”等,必要时还必须在显微镜下进行识别。事实上,外周血白细胞的构成十分复杂,单用一般染色和镜检也不可能达到准确分类。例如,看来似乎比较单一的外周血淋巴细胞,实际上是由T细胞、B细胞和自然杀伤(NK)细胞所构成,其中T细胞还可再分成许多亚群<sup>(11)</sup>。这些细胞

作者单位: 350025 福州市, 南京军区福州总医院全军医学检验中心

在显微镜下是无法区分的,必须用特异的抗淋巴细胞分化抗原群(CD)单克隆抗体,建立免疫方法(如流式细胞术)进行免疫表型检测<sup>(12-14)</sup>。粒细胞、单核细胞甚至血小板等也是如此,这些分化抗原目前也采用CD编号。对临床有重要意义,大小接近白细胞的巨大血小板和大小类似血小板的白细胞碎片和红细胞碎片,在血液分析仪和肉眼镜下往往也不易与血小板区分,只能用免疫学方法加以鉴别<sup>(15)</sup>。白血病类的“恶变”细胞,往往处于不同的分化阶段,具有肿瘤细胞的特性,其形态变化很大,准确识别有一定困难。早期的急性白血病FAB分类法,是建立在常规染色的形态学分析基础上的,鉴别能力有限<sup>(16)</sup>。后来发现有些白血病有染色体畸变,例如慢性粒细胞白血病患者第9号和22号染色体长臂发生易位,形成了有鉴别意义的所谓费城染色体(Ph,即t(9;22))。此后,在其他白血病相继发现了不同类型的染色体易位等畸变,于是除了一般的细胞形态学和免疫学用于急性白血病鉴别以外,又增加了细胞遗传学(Cytogenetics,即染色体分析),形成了所谓“MIC”鉴别模式。随着分子生物学技术的发展,人们发现9号和22号染色体易位后,形成了一种bcr/abl融合基因。这样就可以用分子生物学方法(如PCR)或荧光原位杂交技术(FISH)加以检测。因此,近年来有人提出,今后FAB分类将变为MICM模式。后一M即指分子生物学<sup>(17-19)</sup>。分子生物学方法较之染色体分析更为敏感,可发现以往难以发现和鉴定的特殊类型的易位;目前已有商品化试剂供应,操作相对较简便,因此,近年来发展很快。不仅在融合基因方面,在器官移植前的淋巴细胞组织配型(HLA鉴定)和特殊血型鉴定方面,近年来已越来越多地采用分子生物学方法<sup>(20)</sup>,这是整个检验学当前和今后重点发展方向。

4. 血栓与止血相关分析:血栓与止血相关的检验,是近年来临床血液学发展最快的领域。在20世纪50年代以前,国内外的所谓“凝血试验”主要是出血性疾病和肝病的实验诊断项目,再就是用于外科手术前预测出血的项目。检测项目少,技术落后。直到20世纪90年代,国内还普遍使用精密度和准确性都很差的玻片法凝血时间和Duke出血时间。近10年来,由于在凝血、抗凝和纤维蛋白溶解机制及其相互关系方面进行了一系列基础性研究,在止血与血栓形成理论和实践上取得了重大突破。许多新的凝血、抗凝、纤溶因子抑制物的发现及检测方法的建立、自动化仪器的普及和试剂的商品化开发,带动了血栓与止血检验技术的发展,成为临床血液学检验的新亮点。

目前,这一类检验的工作量很大,在发达国家估计已占血液学检验的1/3。中华医学会检验学会与中华医学会血液分会血栓与止血专业委员会在1997年烟台会议上联合提出了与国际接轨的PT、APTT和纤维蛋白原测定标准化方案的建议;同时建议淘汰玻片法凝血时间和Duke出血时间(需要时可用模板式出血时间法测定)<sup>(21-22)</sup>。目前,我国一般中等以上医院,大都开展“内源”、“外源”和“共同”途径凝血因子的过筛试验(如PT、APTT、T.T等)和常用凝血因子测定。在抗凝因子方面抗凝血酶III,蛋白C、蛋白S测定也日益普及。在纤维蛋白(原)降解产物(FDP),D-二聚体测定已相当普及。在止血功能方面血小板计数、出血时间测定方法的改进和规范化、血小板活化标志物和vWF等的检测,为临床出血性疾病和血栓病(如心、脑血管栓塞等)的诊断、判断患者是否处于高凝状态和抗凝治疗的监控等,提供了许多新的检测指标。与其他临床检验一样,分子生物学方法在血栓与止血检验,特别是遗传性出、凝血异常和血栓检验工作者,近年来在这方面已经取得不少重大成果,有的已达到国际先进水平。

我国临床血液学实验室检测与建国初期相比,特别是改革开放以来,发生了翻天覆地的变化。上述仅为3个主要方面的概况,实际发展情况决不仅如此。例如血液学检验规范化的工作模式和质量控制体系已初步形成。在中华医学检验学会和卫生部临检中心多年的努力下。从标本采集方法和容器(强调用静脉血和用真空采血管)的规定、抗凝剂的选择、仪器的校准、方法的标准化和质量控制都已有(或正在拟订)统一的规定。有的已在《中华检验医学杂志》等刊物上发表,大部分地区的大医院,临床血液学检验已达到或接近发达国家的同等水平,但中西部有些欠发达地区还存在一定差距。相信随着我国国民经济的跨越式发展,这种差距将会很快缩小以至消失。

## 参 考 文 献

- 1 蔡宏道,陈忠,孔祥云,等.编.实用临床检验学.上海:上海卫生出版社,1957.21-79.
- 2 乐家新,丛玉隆,兰亚婷,等.网织红细胞计数与分群测定及临床应用探讨.临床检验杂志,2003,21:231-233.
- 3 朱忠勇.准确计数血小板方法学研究进展.国外医学临床生物化学与检验学分册,2002,23:131-134.
- 4 Bessman JD, Gilmer PR Jr, Gardner FH. Improved classification of anemias by MCV and RDW. Am J Clin Pathol, 1983,80:322-325.
- 5 鲍连生,张纪平,常岚,等.红细胞体积分布宽度参数在婴幼儿缺铁性贫血中的实验观察.临床检验杂志,1999,17:374.
- 6 Bull BS. Morphology of the erythron. In: Williams hematology

- 6<sup>th</sup>ed.New York ,McGraw-hill ,2001-284.
- 7 曾瑞萍,余升红,胡彬.  $\alpha$  和  $\beta$  地中海贫血双重杂合子基因诊断. 中华血液学杂志,1998,19:525-527.
  - 8 李洪义,段山,郑辉,等.四引物等位特异性聚合酶链反应检测  $\alpha 2$  珠蛋白基因终止密码子突变. 中华检验医学杂志,2003,26:172-174.
  - 9 王瑶,吴玉水,杨文西,等.一种新的 NADH-细胞色素 b5 还原酶基因点突变.中华血液学杂志,1999,20:521-523.
  - 10 王沙燕,蔡佩欣,张阮章,等.基因芯片用于检测缺失型  $\alpha$  地中海贫血.中华血液学杂志,2002,23:603-604.
  - 11 Roitt I,Brostoff J,Male D.Immunology.6<sup>th</sup> ed. London: Mosby, 2001.15-45.
  - 12 王建中.流式细胞术分析血液淋巴细胞免疫表型方法学研究.中华检验医学杂志,2000,23:206.
  - 13 朱立华,王建中.中国人血液淋巴细胞免疫表型参考值调查.中华医学检验杂志,1998,21:223-226.
  - 14 北京市临床流式细胞分析协作组.流式细胞仪单平台技术调查成年人外周血 T 淋巴细胞亚群绝对数参考范围.中华检验医学杂志,2003,26:123-126.
  - 15 李珉珉.流式细胞术检测血小板功能及其临床应用.中华医学检验杂志,1999,22:182-184.
  - 16 刘艳荣,常艳,王卉,等.慢性淋巴细胞系统白血病免疫表型分析.中华检验医学杂志,2003,26:17-21.
  - 17 唐亚辉,马,李次芬,等.急性白血病的确良形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学分型.中华血液学杂志,2002,23:264-266.
  - 18 吴彬,周淑芸,刘晓力,等.联合应用 FISH 和巢式 RT-PCR 技术检测慢性髓系白血病 bcr/abl 融合基因.中华血液学杂志,2003,24:235-237.
  - 19 李建勇,潘金兰,吴亚芳,等.间期荧光原位杂交技术检测急性粒-单核细胞白血病 inv.中华血液学杂志,2002,23:30-32.
  - 20 刘晓力,周淑芸,刘孟珉,等.应用荧光原位杂交技术筛选 bcr 探针及分析微小残留病.中华检验医学杂志,1999,22:213-216.
  - 21 朱忠勇.凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间测定标准化(附纤维蛋白原测定推荐方法和淘汰过时的出凝血时间的建议).中华医学检验杂志,1998,21:308-312.
  - 22 丛玉隆.关于卫生部出凝血时间操作规程<通知>的理解.中华检验医学杂志,2001,24:183-185.