

77.3%<sup>[4]</sup>。也有文献报道该法检测 GAD-Ab 的阳性率高达 67.4%<sup>[5]</sup>。本研究中,免疫印迹法检测 GAD-Ab 的阳性率结果则相对偏低,只有 6%,与文献报道的结果相差较大,考虑是由于不同研究之间样本数量差异造成的。

Burbelo 等<sup>[6]</sup>采用放射免疫法对 49 例 T1DM 患者检测 GAD-Ab,结果阳性率为 77.6%。本研究中,放射免疫分析法检测 GAD-Ab 的阳性率为 20%,与文献<sup>[6]</sup>报道的结果相差较大,可能与本研究检测的是 T2DM 患者有关。由于放射免疫分析法能对 GAD-Ab 进行定量分析,所以其结果可用于临床的疗效判断。目前临床上用于检测 GAD-Ab 的方法学有很多,包括 ELISA 法、免疫印迹法、放射免疫法、免疫层析法等,不同的方法学之间,结果差异较大,临床医生在看报告单时,应了解其方法学差异性,正确解读报告单,并结合患者临床表现及其他检查项目综合分析,才能做出正确的判断。

参考文献

[1] Petersen JS, Dyrberg T, Karlsen AE, et al. Glutamic acid decarboxylase (GAD65) autoantibodies in prediction of B-cell function and remission in recent-onset IDDM after cyclosporin treatment [J]. Diabetes, 1994, 43(11):1291-1296.

• 经验交流 •

[2] 郑虹,苏本利.免疫印迹法测定 GADA 在糖尿病分型诊断中的应用[J].临床和实验医学杂志,2011,10(6):408-409.

[3] 冯真贵,杨士军,方小正.胰岛细胞自身抗体,抗谷氨酸脱羧酶抗体在初诊 2 型糖尿病中的测定与意义[J].标记免疫分析与临床,2000,7(1):68-69.

[4] 黄川英.免疫印迹法在检测胰岛 B 细胞自身抗体中的应用[J].华夏医学,2007,20(4):805-806.

[5] 陆红,周薇.免疫印迹和酶联免疫吸附法检测糖尿病自身抗体的结果比较[J].实用医技杂志,2007,14(18):2377-2378.

[6] Burbelo PD, Hirai H, Issa AT, et al. Comparison of radioimmuno-precipitation with luciferase immunoprecipitation for autoantibodies to GAD65 and IA-2 $\beta$ [J]. Diabetes care, 2010, 33(4):754-756.

(收稿日期:2014-03-11)

联合应用细胞化学染色诊断急性混合型白血病临床研究

李清元

(吉林市中心医院检验科,吉林吉林 132011)

**摘要:**目的 应用细胞化学染色诊断急性混合型白血病(AHL)。方法 6 种细胞化学染色方法。结果 AHL 过氧化物酶(POX)染色和苏丹黑 B(SBB)染色可表现阳性,但阳性率均较低。糖原(PAS)染色可呈粗颗粒、珠状和块状或部分细胞呈细颗粒,部分粗颗粒、小珠。双克隆型髓系粒细胞和单核细胞的鉴别主要观察 POX 阳性物分布及单核反应较强的  $\alpha$ -丁酸萘酚酯酶( $\alpha$ -NBE)染色和酸性磷酸酶(ACP)染色。结论 联合应用细胞化学染色方法,应用髓系标志物检测,可以提高 AHL 的诊断率。

**关键词:**急性混合型白血病; 细胞化学染色; 诊断

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.060

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2014)22-3133-03

急性混合型白血病(AHL)是急性白血病中髓细胞和淋巴细胞系共同累及的一组疾病,占急性白血病的 1.2%~1.5%。根据细胞来源与表达不同可分为:双表型、双克隆型和双系列型<sup>[1-2]</sup>。单纯形态学检查可以部分诊断后 2 种类型,但对双表型根本无法确定,应用细胞化学染色方法,同时应用髓系标志物检测,可以提高 AHL 的诊断率。本研究对 2012~2014 年在本院住院并确诊的 35 例 AHL 患者的细胞化学染色结果进行了分析,报道如下。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 35 例 AHL 患者均为本院住院的初诊患者,按积分法经形态学、白血病免疫分型、骨髓电镜分析和分子生物学检查而确诊,其中双表型 9 例,双克隆型 26 例。双克隆型 AHL 中包括粒细胞/淋巴细胞混合型 18 例,单核细胞/淋巴细胞混合型 8 例。本组病例除具有一般急性白血病的表现外,其较为突出的临床特点为外周血白细胞计数升高,循环原始细胞计数升高,髓外浸润多(包括肝、脾、淋巴结、皮肤、纵隔及浆膜腔等),易发生脑膜白血病。由于 AHL 起病早,来势凶险,广泛浸润,高肿瘤负荷导致其治疗困难,预后不良。

1.2 方法<sup>[3]</sup>

**1.2.1 过氧化物酶(POX)染色(联苯胺法)** 于新鲜涂片滴加复方联苯胺染液 3~8 滴,使之盖满涂片 1~2 min 后加入等量过氧化氢溶液,5 min 后用水冲洗,用瑞氏染液复染后进行观察。

**1.2.2 苏丹黑 B(SBB)染色** 新鲜干燥涂片用 10%甲醛-生理盐溶液固定 10 min,流水冲洗 2 min,蒸馏水漂洗,在室温彻底晾干。在 1% SBB 染液中孵育 1 h(密封染色缸盖)。涂片用 70%乙醇浸泡 2~3 min,去除过多的染液。流水冲洗 2 min,蒸馏水洗 1 min。用 1%伊红复染 5 min,蒸馏水洗 2 min。用 2%亚甲蓝复染 1 min,蒸馏水洗 2 min,干后镜检。

**1.2.3 糖原(PAS)染色** 干燥血片或骨髓片入 95%乙醇固定 10 min,自然风干水洗后,2%高碘酸引流扑片 15 min,用滤纸吸干入雪夫试剂染缸 1 h,37℃水浴核固红复染 20 min,干后油镜观察。

**1.2.4 酸性磷酸酶(ACP)染色** 用相同方法制备 2 份基质液,1 份加入适量的 L-酒石酸,另外 1 份不加酒石酸。取 2 张相同标本的涂片,分别用这 2 种不同的基质液做酸性磷酸酶染色。如果血细胞内的 ACP 耐酒石酸,则 2 张均涂片呈阳性;如不耐酒石酸,则不加 L-酒石酸的涂片呈阳性,加 L-酒石酸的涂片呈阴性反应。

**1.2.5  $\alpha$ -丁酸萘酚酯酶( $\alpha$ -NBE)染色** 血细胞内的  $\alpha$ -NBE 在 pH 碱性条件下,水解基质液中的  $\alpha$ -丁酸萘酚并释放出  $\alpha$ -萘酚,后者与基质液中的重氮盐偶联形成不溶性的有色沉淀,定位于细胞质内酶所在的部位。本试验常用的重氮盐为固紫酱 GBC 盐,形成的有色沉淀为红色。单核细胞系的阳性可被氟化钠抑制,所以通常同时做氟化钠抑制试验。

**1.2.6 酯酶(SE)染色** 血细胞内的氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶

(NAS-DCE)水解基质液中的氯乙酸 AS-D 萘酚,产生 AS-D 萘酚,进而与基质液中的重氮盐偶联形成不溶性的有色沉淀,定位于细胞质内酶所在的部位。NAS-DCE 几乎仅出现在粒细胞,其特异度高,因此又称为“粒细胞酯酶”。

1.3 结果观察 观察涂片细胞分布均匀“体”、“尾”的幼稚细胞,阳性率及阳性指数均按常规方法计数。其中,阳性率指显微镜下原始细胞胞浆中的阳性颗粒所占的百分率。

2 结 果

2.1 双表型 AHL 9 例双表型 AHL 的骨髓形态表现为一类细胞,免疫表型均表达髓系和 B 淋巴细胞,部分细胞化学染色结果见表 1。1 例 POX 染色阳性,其阳性率为 6.0%;5 例 SBB 染色阳性,其中 3 例阳性率仅为 1.0%,2 例阳性率高达 92.0%,平均阳性率为 37.4%;SE 染色均阴性; $\alpha$ -NBE 染色均

阳性,阳性率最低为 2.0%,最高为 98.0%,平均阳性率为 21.0%,6 例不被氟化钠抑制;8 例 ACP 染色阳性,阳性率最低 2.0%,最高 90.0%,平均阳性率为 32.8%;9 例双表型 AHL PAS 染色均为阳性,阳性率最低为 60.0%,最高为 90.0%,平均阳性率为 74.0%,其中 2 例 PAS 染色为细颗粒弥散型,5 例在细颗粒弥散状基础上部分细胞可见粗颗粒和珠状,2 例为粗颗粒和珠状。

2.2 双克隆型 AHL 8 例单核细胞/淋巴细胞混合型 AHL 中,单核细胞/B 淋巴细胞 7 例,单核细胞/T 淋巴细胞 1 例,形态上大致可分辨出两类不同的细胞;18 例粒细胞/淋巴细胞混合型 AHL 中,粒细胞/B 淋巴细胞 16 例,粒细胞/T 淋巴细胞 2 例,6 种细胞化学染色法检测的平均阳性率结果,见表 1。

表 1 不同类型 AHL 细胞化学染色法检测平均阳性率(%)

类型	<i>n</i>	POX	SBB	SE	$\alpha$ -NBE	ACP	PAS
双表型	9	6.0	37.4	0.0	21.0	32.8	74.0
双克隆型							
单核细胞/T 淋巴细胞	1	0.0	1.0	68.0	10.0	46.0	70.0
单核细胞/B 淋巴细胞	7	8.3	16.0	40.9	38.0	28.7	77.1
粒细胞/T 淋巴细胞	2	0.0	12.0	30.0	40.0	4.0	87.0
粒细胞/B 淋巴细胞	16	5.2	11.3	22.5	0.0	18.4	81.0

3 讨 论

AHL 是淋系和髓系共同累及的一组恶性造血系统疾病,形态学上不能分辨,临床上目前多应用流式细胞仪进行诊断,但基层医院没有开展流式细胞检测的条件,往往延误了患者的最佳治疗时机,故本研究探讨了细胞化学染色法在 AHL 分型诊断中的作用。

3.1 POX 染色 对于双表型 AHL,POX 存在于粒细胞的嗜苯胺蓝颗粒和单核细胞溶酶体中,临床上明确 POX 阳性率大于 3%~5%者为急性非淋巴细胞白血病(ANLL),从这些病例可以看出,POX 阳性细胞均为髓细胞,但不能排除阴性细胞中存在淋巴细胞的可能,提示 POX 阳性率低于 5%时,应考虑可能为 AHL。原粒细胞 POX 染色显阴性或弱阳性反应,早幼粒细胞以下阶段随着细胞分化成熟而增强,中幼粒和晚幼粒细胞阳性物充满胞浆,少部分盖在细胞核上。嗜酸粒细胞 POX 呈强阳性。嗜碱性粒细胞阴性或弱阳性。原始单核细胞缺乏 POX 活性,呈阴性和弱阳性。幼稚单核细胞呈阴性或弱阳性反应,阳性反应物颗粒细小,散在分布于细胞质与细胞核上。淋巴细胞、原始及幼稚巨核细胞、浆细胞、高雪氏细胞、尼曼-匹克细胞、组织嗜碱细胞、原红及幼红细胞 POX 染色呈阴性;网状细胞、海兰细胞 POX 染色呈阴性或阳性。有重要的鉴别诊断意义。

3.2 SBB 染色 各种血细胞 SBB 染色结果与 POX 染色大致相似。分化差的原始粒细胞为阴性,分化较好的原始粒细胞在核旁高尔基体区域开始出现阳性颗粒,随细胞分化成熟阳性颗粒增大增粗。嗜酸粒细胞阳性颗粒粗大,染色偏棕色,颗粒周边染色深,中心为蛋白质组成的不着色区。嗜碱细胞阴性或阳性,阳性颗粒大小不一。单核细胞染色阴性或弱阳性,颗粒细小,分布弥散。

3.3 SE 染色 SE 染色是粒细胞和肥大细胞的标志酶。原始粒细胞 SE 染色一般呈阴性,少部分可见弱阳性反应<sup>[6-7]</sup>。自早幼粒至成熟中性粒细胞均呈阳性反应。以早幼粒和中幼粒

反应最强,阳性物充满胞浆,酶活性并不随着细胞的成熟而增强,而是减弱。嗜碱粒细胞阴性,个别弱阳性。嗜酸粒细胞阴性或弱阳性。单核细胞多为阴性,偶呈弱阳性反应,阳性物为颗粒散在分布。淋巴细胞通常 SE 染色呈阴性,但自然杀伤(NK)细胞阳性率约为 50%。幼红细胞、巨核细胞、血小板、高雪氏细胞和尼曼-匹克细胞、浆细胞 SE 染色呈阴性,海蓝细胞呈阴性或弱阳性,组织嗜碱细胞(肥大细胞)呈强阳性。急性粒-单细胞白血病部分白血细胞呈阳性,部分呈阴性。

3.4  $\alpha$ -NBE 染色<sup>[8]</sup> AHL 细胞一般较原始,阳性病例仅占 8.5%,阳性率均低于 5%。 $\alpha$ -NBE 是单核细胞及巨噬细胞标志酶。AHL 阳性例数占 91.7%,表明  $\alpha$ -NBE 对单淋混合型和粒淋混合型有鉴别意义。 $\alpha$ -NBE 对于单核细胞特异性强,但灵敏性差。单核细胞/B 淋巴细胞混合型 AHL 的阳性率略高于双表型 AHL,与单核细胞白血病相同。

3.5 ACP 染色 ACP 染色可用于诊断多毛细胞白血病。多毛细胞 ACP 染色呈阳性或强阳性反应,且其活性不被 L-酒石酸抑制,有助于该病的诊断。ACP 染色还可用于鉴别 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞。在人体发育中,T 淋巴细胞的酸性磷酸酶出现在发育早期胸腺细胞阶段,并持续到成熟。定位于高尔基体中,所以大多数急性和慢性 T 淋巴细胞增生疾病都表现 ACP 活性,阳性物多呈颗粒型,也可以为阴性,以 T-ALL 的反应最强,B 淋巴细胞增生的 ACP 反应弱阳性或阴性。高雪氏细胞和尼曼-匹克细胞的鉴别:高雪氏细胞 ACP 呈强阳性反应,并具有抗酒石酸功能;尼曼-匹克细胞呈阴性或弱阳性反应。急性髓系白血病的 ACP 反应:原始单核和幼稚单核细胞 ACP 为强阳性反应;原粒细胞对 ACP 反应不一,早幼粒细胞和中幼粒细胞 ACP 较弱,异常早幼粒细胞较强。用于急性淋巴细胞白血病(ALL)和 ANLL 的鉴别:ALL 阳性物多为颗粒型。ANLL 呈弥散状。浆细胞 ACP 呈较强的阳性反应,阳性物为大粗颗粒和珠状散在分布于细胞质内。ACP 染色是鉴别 T 淋巴细胞 ALL 和 B 淋巴细胞 ALL 的重要标志<sup>[4]</sup>。

**3.6 PAS 染色** 急性淋巴细胞白血病:原、幼淋巴细胞 PAS 阴性或阳性,阳性率升高,阳性反应物多呈中粗颗粒、粗颗粒散在分布;珠状和块状围绕核周。慢性淋巴细胞白血病时淋巴细胞的阳性率增加,呈粗颗粒状或块状;恶性淋巴瘤时淋巴瘤细胞阳性率高、阳性强、呈块状或粗颗粒状;Reed-Sternberg 细胞则为弱阳性或阴性反应。急性粒细胞白血病:原粒及早幼粒细胞呈阴性或弱阳性,阳性反应物多为细颗粒弥散状。异常早幼粒细胞的 PAS 反应呈强阳性,阳性反应物为密集的细颗粒弥散状,胞浆边缘及外浆处多分布粗大颗粒,大部分病例细胞胞浆内易见柴束状结晶,少数病例在细颗粒弥散状基础上可见 1~2 个小珠<sup>[9]</sup>。单核细胞白血病:原、幼单核细胞 PAS 较粒细胞强,阳性反应呈细颗粒弥散分布,部分夹杂中粗颗粒、粗颗粒,胞质边缘及伪足处呈大粗颗粒,少部分在此基础上可见小珠,少数可见裙边样反应。M4EO 异常嗜酸粒细胞: PAS 可见深粉红色小珠。ANLL Auer 小体 PAS 阳性。急性微分化型白血病(AML-M0): PAS 可为细颗粒、中粗颗粒散在分布;部分在此基础上可见小珠。红细胞系统疾病:红血病、红白血病、骨髓增生异常综合征中幼红细胞可阳性(呈均匀红色或块状),有时幼红细胞阳性反应强且阳性率高,甚至红细胞也呈阳性。在某些红系良性疾病,如缺铁性贫血、地中海贫血中幼红细胞可阳性,有时阳性率也较高;巨幼细胞贫血、溶血性贫血、再生障碍性贫血等幼红细胞可阴性,有时个别细胞可呈阳性。PAS 阳性反应物对鉴别 ALL 和 ANLL 有重要意义,一般髓系细胞多表现细颗粒弥散状,淋巴细胞多表现为粗颗粒、珠状和块状。而这一特点在未分化粒细胞白血病和急淋明显少见,单核细胞白血病无此特点<sup>[10]</sup>。因此 PAS 染色有双重表现或只表达淋系是鉴别 AHL 非常重要的特点。

综上所述,诊断 AHL 必须综合分析较多的细胞化学染色结果,细胞化学染色是在保存血细胞形态的基础上进行化学成

• 经验交流 •

分的定位、定性和定量分析,是血液病实验诊断的重要手段。近年来由于各种化学染色的广泛开展和联合应用及新的底物不断产生,使细胞化学染色在血液病,尤其白血病的诊断及鉴别诊断中有重要的价值。

# 参考文献

- [1] 杨天楹. 急性白血病的诊断与分型[J]. 中华血液学杂志, 1986, 7(5): 305-305.
- [2] Gale RP, Bassat IB. Hybrid acute leukaemia[J]. Br J Haematol, 1987, 65(3): 261-264.
- [3] Bennett JM, Castoldi GL, Catovsky D, et al. Recommended methods for cytological procedures in haematology [J]. Clin Lab Haematol, 1985, 7(1): 55-74.
- [4] 崔雯, 钱林生. 细胞化学染色对急性淋巴细胞白血病分型意义的探讨[J]. 中华血液学杂志, 1998, 19(7): 376-377.
- [5] 王冀粤. 细胞化学染色对增生性白血病(M4)分型意义的探讨[J]. 中国误诊学杂志, 2001, 1(7): 999-1000.
- [6] 史敏, 李波. 主要细胞化学染色在急性白血病分型中的评价[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(5): 303.
- [7] 郝冀洪, 朱会芬. 介绍一种嗜碱性粒细胞快速染色新方法[J]. 检验医学, 2004, 19(1): 50-50.
- [8] 崔雯, 许议丹, 孙万臣, 等. 急性混合性白血病细胞化学染色特点分析[J]. 白血病·淋巴瘤, 2004, 12(6): 323-325.
- [9] 贡金英, 刘旭平, 李承文, 等. 两例急性髓系白血病伴 t(6;21;8)(p22;q22;q22)复杂易位患者的临床与实验室研究[J]. 中华血液学杂志, 2006, 27(5): 314-317.
- [10] 姬美容, 林果为. 恶性淋巴瘤增生性疾病细胞形态学特征和免疫表型的联系[J]. 中华血液学杂志, 1992, 13(12): 641-643.

(收稿日期: 2014-04-16)

## CA125 在女性健康体检中的临床应用

李亚波<sup>1</sup>, 邹映东<sup>1</sup>, 卜德艳<sup>2△</sup>

(云南省中医院: 1. 检验科; 2. 体检中心, 云南昆明 650021)

**摘要:**目的 分析云南省中医院女职工健康体检中的 CA125 检测情况, 探讨 CA125 在女性健康体检中的临床应用意义。  
**方法** 2011 年第 1 次检测 923 例女职工血清 CA125 浓度, 并对 CA125 阳性者进行追踪随访, 2012 年再次检测 CA125, 收集资料进行统计分析。  
**结果** 绝经前妇女和绝经后妇女的 CA125 阳性率差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。导致 CA125 升高的原因除生理性因素外, 以女性泌尿生殖系统良性疾病为主。病理性 CA125 升高者, 经积极治疗后, 大部分患者的 CA125 浓度明显下降。  
**结论** 在女性健康体检中, 导致 CA125 升高的疾病以女性泌尿生殖系统良性疾病为主, 应正确对待 CA125 作为肿瘤标志物在健康体检中的应用。

**关键词:**糖类抗原 125; 肿瘤标志物; 健康体检; 泌尿生殖系统

**DOI:**10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 22. 061

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2014)22-3135-02

糖类抗原 125(CA125)作为肿瘤标记物, 被列为我国女性健康体检项目之一。CA125 的主要成分为高分子糖蛋白, 普遍存在胚胎体腔上皮来源的组织中, 体腔上皮组织细胞受到刺激后, 血清 CA125 浓度即会上升, 故其诊断特异度较低。本文分析了本院 2011、2012 年连续 2 年女职工健康体检中 CA125 的检测情况, 探讨了 CA125 在女性健康体检中的临床应用意义。

# 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2011 年 9 月与 2012 年 9 月连续 2 年进行健康体检的本院女性职工 923 例作为研究对象, 年龄 19~85 岁。体检项目包括体格检查, 血、尿常规, 血液生化(肝肾功能、血糖血脂), 乙肝血清标志物, 胸部 X 线片(心、肺、纵隔), 常规心电图检查, 腹部彩色多普勒超声检查(肝、胆、胰、脾、双肾、输尿管、膀胱、子宫、附件)。

△ 通讯作者, E-mail: liyabo722@163. com.