维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)03-0284-02

红细胞膜脂质成分的变化与白细胞计数假性增高的关系

王 梅，唐 超，陈宏础，漆嘉梨
（重庆医科大学临床学院检验科 重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨全自动血细胞分析仪测定血常规时出现白细胞计数假性增高与红细胞膜脂质成分变化的关系。方法：应用酶法在全自动生化分析仪上进行正常对照组和白细胞计数假性增高组病人红细胞膜胆固醇（cholesterol, Ch）及磷脂（phosphor, PL）含量的测定。结果：白细胞计数（WBC）假性增高组病人胆固醇含量比正常对照组显著增高（$P<0.05$），而磷脂含量比对照组显著降低（$P<0.05$）且Ch/PL也有显著差异（$P<0.01$）。结论：白细胞计数假性增高与红细胞膜脂质成分的变化有密切关系。

【关键词】白细胞；红细胞膜；脂质
【中国图书分类法分类号】R446 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-11-15

The relationship between the change of erythrocyte membrane lipid and false increase of white blood cell count

WANG Mei, et al
(Department of ClinicalLaboratory, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To explore the relation between false increase of white blood cell count and the changes of erythrocyte membrane lipid in automatic whole blood count. *Methods*: The cholesterol (Ch) and phospholipids (PL) in control (Group 1) and white blood cell count false increase (Group 2) were detected by the auto-chemobiological analysor respectively. *Results*: Comparing with the results of Group1 the level of cholesterol in Group 2 increased ($P<0.05$) and phospholipids reduced significantly ($P<0.05$). *Conclusion*: The false increase of white blood cell count is closely related with the changes of erythrocyte membrane lipid.

【Key words】 White blood cell; Erythrocyte membrane; Lipid

有文献报道在运用全自动血细胞分析仪进行血常规检测中出现的白细胞计数假性增高，可能与其红细胞（RBC）膜脂质变异有关[1,2]。但未见对此类病人RBC膜脂质成分进行具体分析的研究报告。本实验旨在测定此类病人RBC膜中磷脂(PL)和胆固醇(Ch)含量，并探讨其变化与白细胞计数(WBC)假性增高的关系。

1 对象和方法

1.1 检测对象

白细胞计数假性增高组病人的确定：在应用K-4500型全自动血细胞分析仪测定病人血常规时，对出现WBC直方图分布异常（特点是直方图在35fl处起点较高，然后急剧下降至几乎和横轴重合，结果显示WBC总数增高）的标本，经人工计数（1%冰醋酸），WBC降低的标本。白细胞假性增高组病人共20例，其中传染科确诊病人19例（其中肝癌6例，肝硬化9例，重症肝炎4例）；泌尿科病人1例，患前列腺增生症。其中男性13例，女性7例。年龄20～42岁，平均32.5岁。采集标本时间2001年4月10日～2001年6月4日。

正常对照组：均系健康体检人员20例，其中男性11例，女性9例，年龄21～38岁，平均30.8岁。

1.2 主要试剂和仪器

日本东亚K-4500型全自动血细胞分析仪，采用原装配套试剂，批号20010311；

日立7170A 型全自动生化分析仪，采用上海长征试剂（批号20010220）及北京中生试剂（批号20010123）。

pH7.4 10mmol/L Tris-HCL 缓冲液，pH7.4 50mmol/L Tris-HCL 缓冲液和70%过氯酸等均为实验者自行配制。

1.3 检测方法

1.3.1 红细胞膜悬液的制备 对这两组病人分别抽取空腹静脉血4ml，肝素抗凝，离心后，去血小板、白细胞和血浆，用pH7.4 10 mmol/LTris-HCL缓冲液溶解RBC，再离心，留取沉淀RBC膜，如此反复溶血，洗涤5次。离心4000r/min 20min，得乳白色RBC膜，再用pH7.4 50mmol/L Tris-HCL缓冲液洗涤1次，最后加入0.6ml 50mmol/L Tris-HCL 稀释，高

作者介绍：王 梅（1970- ），女，主管检验师。
主要研究方向：临床检验。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 白细胞计数假性增高组与正常对照组中PL，Ch含量的比较（$\bar{x}\pm S$）

组别	n	PL含量（μmol/mg膜蛋白）	Ch含量（μmol/mg膜蛋白）	Ch/PL
正常对照组	20	0.235 ± 0.035	0.227 ± 0.022	0.978 ± 0.142
白细胞计数假性增高组	20	0.182 ± 0.006	0.305 ± 0.063	1.702 ± 0.430
t		2.82	3.451	4.216
P		<0.05	<0.05	<0.01

速震荡，制成悬液，待用。

1.3.2 红细胞膜蛋白和胆固醇的检测 取红细胞膜悬液100 μl，采用CHOD-PAP法测定膜胆固醇。磺柳酸法测定红细胞膜蛋白（本院配制试剂,参照全国临床检验操作规程第2版），以上两种物质均在日立7170A型全自动生化分析仪上测定。

1.3.3 红细胞膜磷脂测定 参照Rouser高氯酸消化法、定磷法[3]。由于1mol PL 含1mol磷，故总PL以磷计算。取RBC膜悬液0.4ml +醇醚混合液4.6ml(醇:醚1:1)，抽提离心，取上清液2.5ml，沸水蒸干，加70%过氯酸250 μl，电炉消化颜色由黑变透明，冷却，加水0.6ml用直接紫外法，在7170A型全自动生化分析仪测定。

1.4 统计学处理

病人组和正常对照组红细胞膜PL,Ch含量及Ch/PL比值均为计量资料，采用两组计量资料比较t检验进行统计学分析处理，以$P<0.05$为差异显著性标准。

2 结 果

2.1 K-4500型全自动血细胞分析仪测得WBC计数假性增高组WBC均数（24.5×10^9/L±6.5×10^9/L），而人工计数方法测得该组WBC均数(6.5×10^9/L±3.0×10^9/L)。

2.2 白细胞计数假性增高组与正常对照组中PL，Ch 结果见表1。

3 讨 论

采用全自动血细胞分析仪测定血常规时，常会遇到某些病人WBC计数呈假性增高，其具体表现为白细胞直方图异常。而这些病人往往患有肝硬化、肝癌、重症肝炎等肝功受损的疾病。本实验结果表明：WBC计数假性增高患者外周血RBC 膜PL显著低于正常对照组（$P<0.05$），而RBC膜中Ch、Ch/PL显著高于正常组（$P<0.05$），提示此类病人RBC膜脂质更新障碍，伴脂质结构发生显著变化。

在肝实质病患者RBC膜中Ch增高可能是由于病变肝脏对高密度脂蛋白(HDL)，载脂蛋白A1(Apo-A1)和卵磷脂胆固醇酰基转移酶（LCAT）的合成减少引起，它们减少必然影响RBC膜中Ch消除，从而致细胞膜中Ch 增高。肝硬化患者RBC膜 PL显著降低，可能是由于此类肝病变是个漫长的过程，此时Apo-A1及Apo-B的合成减少，必然使细胞膜中PL，Ch的更新发生障碍，而磷脂的代谢活性高，易被水解，过氧化而含量降低，但Ch的代谢活性低，易发生沉积蓄积而致含量增高[4]。

Ch，PL是RBC膜结构的基本成份，Ch/PL之比正常值约为0.8 ~ 1.0[5]。它们的含量及比例的正常是维持RBC正常功能所必需的[6]。RBC膜是由Ch，PL组成的非对称性双分子层结构。在全自动血细胞分析仪测定血常规时，由于WBC计数假性增高的此类病人RBC膜Ch升高，使得膜的密度增大，膜的流动性减小，变形能力降低，而RBC膜上PL降低，Ch/PL之比升高，又使得膜非对称性双分子层结构丧失被破坏。全自动血细胞分析仪测定白细胞时，所用溶血剂对这种膜密度增大、非对称性双分子层结构丧失的RBC破坏较困难。本实验运用K-4500型全自动血细胞分析仪测定病人血常规，所用溶血剂为Sulfolyser，其中主要成分为季胺盐表面活性剂其作用为破坏红细胞进行白细胞计数、分类和SLS（十二磺基硫酸钠），后者破坏红细胞并进行血红蛋白的测定。季胺盐表面活性剂为一种阳离子表面活性剂。由于此类病人RBC膜结构发生改变，使季胺盐表面活性剂对结构发生改变的RBC膜上PL溶解能力减弱，PL与RBC膜上蛋白分离作用也减弱，最终导致RBC膜不能被破坏，RBC被仪器误认为WBC，造成WBC计数假性增高。

对于此类WBC计数假性增高的标本，可采用1%冰醋酸人工计数WBC方法来纠正测定。该方法是目前公认最理想的处理此类病人WBC计数的方法。除此之外，还有扩大此类病人的标本稀释倍数以及增大溶血剂用量等方法，但效果均不如人工计数方法。

本实验对出现WBC计数假性增高的此类病人的

（下转第288页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

射性核素诱导、病毒诱导、动物自发的肿瘤、同种异体移植和异种移植等。化学诱导和放射性核素诱导费时多，病毒诱导费时相对少得多，常用作同种异体移植的第1代原发骨肿瘤模型的制作。动物自发性肿瘤非常稀少，同种异体移植有时会受到受体动物的免疫力的影响，移植到免疫发育不完善的新生鼠成功率更高。而异种移植常需抑制受体动物的免疫力或移植到无胸腺小鼠体内，由于动物免疫力极差，难以抵抗病原微生物的侵袭，存活时间短，实用性受到影响[1]。近20年来，随着化疗的进展，保肢治疗已成为肢体恶性骨肿瘤的主要治疗手段之一。对保肢局部治疗手段的研究要求愈来愈多，常用的恶性骨肿瘤模型是以鼠模型为主的小型动物模型，不能满足保肢局部治疗手段的研究。

VX_2肿瘤细胞株起源于shope病毒诱发的兔乳突状瘤衍生的鳞癌，经过72次移植传代后正式建立株，命名为VX_2。是一种可移植的肿瘤细胞株，可接种到兔的肾脏、肝脏等部位，制成原位肿瘤动物模型[2,3]，其生物学性质稳定。本实验建立的兔胫骨恶性骨肿瘤模型，其原发灶和转移灶的组织学特征以及转移规律与移植于兔其他部位的VX_2肿瘤基本一致[2,3]，说明本模型具有稳定的生物学特征。尽管VX_2肿瘤移植于成年兔，其移植成功率为100%，且无肿瘤自发消退，说明VX_2肿瘤的同种异体移植受受体兔免疫功能的影响很小，模型制作更加方便。本模型的放射学特征为骨质破坏、骨膜反应和软组织肿块，生物学表现除原发灶局部侵润外，还主要向肺转移，这些表现类似于人原发恶性骨肿瘤的表现，可作为一种原发性恶性骨肿瘤模型，用于保肢局部治疗手段的研究，如保肢手术，射频、微波、冷冻和高强度聚焦超声等物理方法的局部灭活肿瘤保肢技术的研究。由于骨骼原发性肿瘤来源于中胚层，以肉瘤为主，而该模型的组织类型仍为鳞癌，因此骨内的移植肿瘤可看成原发于其它部位鳞癌的转移病灶，也可作为转移性骨肿瘤的模型。

参 考 文 献

[1] Berlin O, Samind D, Donthineni-Rao R, et al. Development of a novel spontaneous metastasis model of human osteosarcoma transplanted orthotopically into bone of athymic mice[J]. Cancer Res, 1993;53:4890-4895.

[2] Kigure T, Harada T, Yuri Y, et al. Ultrasound-guided microwave thermotherapy on a VX_2 carcinoma implanted in rabbit kidney[J]. Ultrasound Med Biol, 1995;21:649-655.

[3] Prat F, Cantari M, Sibille A, et al. Extracorporeal high-intensity ultrasound for VX_2 liver tumor in the rabbit[J]. Hepatology, 1995;21:832-836.

（上接第285页）

RBC膜脂质成分作初浅的分析，探讨了RBC膜脂质成分变化与WBC计数假性增高之间的关系。但溶血剂溶解血细胞是一个非常复杂的过程，其作用机制尚待我们进一步研究。

参 考 文 献

[1] 周洪华，颜 萧，高航云，等. 溶血剂对白细胞形态的影响[J]. 中华医学检验杂志，1997;20(2):87-89.

[2] 谢卫民，樊 云. 应用全自动血细胞分析仪对重症黄疸性肝炎病人血细胞的检测[J]. 湖南医科大学学报，1999;24(4):390-391.

[3] 张朝霞，李 巍，杨春荣. 肝硬化时红细胞中磷脂和胆固醇的变化[J]. 新疆医学，1997;27(2):75-76.

[4] 沈国钧，胡 景，万伯珍，等. 肝硬化患者载脂蛋白A的变化及其意义[J]. 中华内科杂志，1990;29(11):676-678.

[5] 张之南，李容生. 红细胞疾病基础与临床[M]. 北京：科学出版社，2000;5-6.

[6] 康格非. 临床生物化学[M]. 北京：人民卫生出版社，1989;59-64,198-200.