

# 從另一個角度看 白血病

# • 白血病的

策劃 陳志賢

執筆 陳志賢 王建智 秦茂昌  
陳銘仁 薛錫堂

指導：賴建安

內容要目：

## 第一部分—急性白血病分類與鑑別的新觀念

- 一、急性白血病的分類
- 二、急性白血病細胞的免疫標記(Immunological marker)
- 三、細胞化學(Cytochemistry)在白血病所扮演的角色

## 第二部分—白血病誘因之研究

- 一、Philadelphia 染色體與白血病
- 二、病毒與白血病
- 三、放射線與白血病

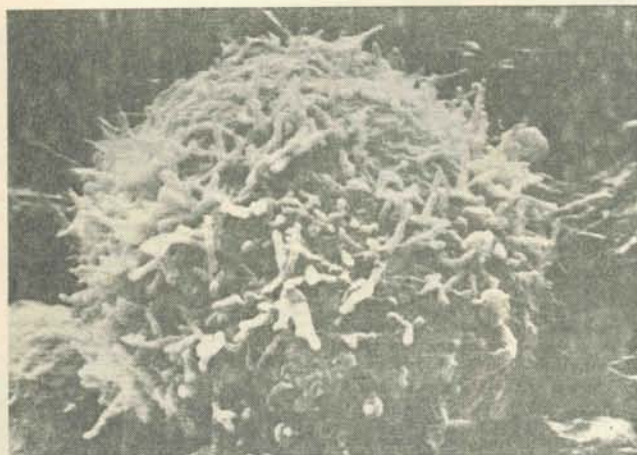
## 第三部分—白血病細胞超微構造異常的探討

- 一、急性骨髓性白血病—顆粒形成的異常
- 二、慢性骨髓性白血病—代謝作用與去顆粒作用的異常
- 三、慢性淋巴性白血病—內質網相關構造的異常

近年來有關白血病(Leukemia)的研究不斷地增加，一個可怕又神祕的疾病正被一層層掀開她的真面目，雖然現有的成就尚未令人滿意，但積極的努力卻值得鼓勵。面對這麼大的題目要做一個專題討論，豈是一個“熱忱”了得？限於能力，我們將近年來一些白血病分類與鑑別方法、誘因的研究、超微構造之研究的報告整理出來供大家作參考。錯誤與未決也許仍然存在，但再接再勵的努力總需要繼續下去！

# 第一部分 急性白血病 分類與鑑別的新觀念

陳志賢



急性白血病 ( leukemia ) 自一九五七 Virchow 分類以來，一直有各種不同的分類法，到目前基於形態學吾人大分為 A.L.L 及 A.M.L，但是這兩個大類中，差異甚大仍可再細分為許多型。隨著近年來免疫學及細胞生化學的日新月異，我們可以把急性白血病的分類及鑑別利用下列的方法給予更合理的解釋與探討。

本篇圖片來源，參考書目第一篇。

- 1 B 和 T 細胞標記  
( B & T cell marker )
- 2 電子顯微鏡  
( Electromicroscope )
- 3 Terminal deoxynucleotidyl transferase
- 4 血清溶菌酶  
( Serum lysozyme )
- 5 E-rosettes
- 6 膜表面免疫球蛋白  
( Membrane immunoglobulin )
- 7 抗 Null-A. L. L. 血清  
( Anti-null A.L.L. antiserum )
- 8 F<sub>c</sub> 與 C<sub>3</sub> 接受器  
( F<sub>c</sub> 與 C<sub>3</sub> receptor )
- 9 細胞基因學—Ph<sup>1</sup> 染色體  
( Cytogenetics-Ph<sup>1</sup> chromosome )
- 10 其他細胞化學方法  
( Other cytochemical methods )



# 一、急性白血病的分類

## A. 分類的演進

一九五七 Virchow 把白血病分成脾性 (splenic) 及淋巴性 (lymphatic), 就展開一連串的看法, 一九四八 Farber 第一次成功地企圖以化學療法 (chemotherapy) 來治療白血病, 經過幾年的觀察, 看起來似乎小孩之淋巴母細胞型 (lymphoblastic type) 比類骨髓型 (myeloid) 及單核型 (monocytic type) 反應好, 而小孩的同一年齡型比大人反應好。因為一九五〇年代早期之前, 急性白血病的治療只有腎上腺皮質類固醇 (corticosteroid) 及葉酸拮抗劑 (folic acid antagonist) 較有效, 在此之後 mercaptopurine 之發現才使 AML 之治療有轉機, 因此細胞分類對治療及預後之重要更為人重視。一九五八 mercaptopurine 及 prednisone 在治療急性白血病實際使用順利起, ALL 及 AML 之分類也就建立至今。

如果對一個未分化的芽母細胞 (blast cell) 要進行分類時, 我們施用 Romanowsky 染色法不一定有絕對益處, 因為除非你找到 Auer 桿狀體 (Auer rods) [ 顆粒球系列 (granulocyte series) 的顆粒而可肯定歸於類骨髓型 (myeloid) ]; 否則即使找到嗜天青顆粒 (azurophilic granule) 也不能認為是骨髓型 (myeloid) 因為偶而在淋巴母細胞型 (lymphoblastic type) 中也會找到。一般施以 Sudan

B 染色或骨髓過氧化酶反應 (myeloperoxidase reaction), 如果陽性我們應可將之歸於類骨髓性系列 (myeloid series) 之中。

## B. 法國-美國-英國 (French-American-British, F. A. B.) 分類

他們把傳統的形態學分類加上各種特殊技巧的運用, 將 A.L.L 及 A.M.L. 作進一步的分類。最後他們把淋巴芽母細胞性 (lymphoblastic type) 分為 L1, L2, L3 而把類骨髓性 (myeloid) 分成 M1, M2, M3, M4, M5, M6。

### 1. 淋巴芽母細胞型

L1 — 在小孩常見的 A.L.L 是均質性細胞分布 (homogeneous population)。

L2 — 在成人常見的 A.L.L 是異質性細胞分布 (heterogeneous population)。

L3 — Burkitt 型白血病 (Burkitt-type cell leukemia)

因此對於非類骨髓性的分類可大分此三者, 而他們又建議說形態學本身並不能提供完全的分別, 在一些缺乏淋巴球性標記 (lymphocytic marker) 的細胞還是被歸於類淋巴球系列 (lymphoid line) 因為它們含 terminal deoxynucleotidyl transferase。

## 2. 類骨髓型

這一個起源於可以分化為顆粒性球 (granulocytes), 單核球 (monocyte), 紅血球 (erythrocyte) 的原始母細胞 (stem cell) 的白血病應該加以適宜的分類, 因為某些型式的白血病有其特殊之臨床症狀, 例如單核球性 (monocytic) 及骨髓性單核球性 (myelomonocytic) 白血病有牙齦肥大及皮膚浸潤而在骨髓前細胞性白血病則與血管內凝集現象 (DIC) 很有關連。而且治療的反應也依不同細胞形式而異。

一般作形態學上的初步鑑定至少要有 Romanowsky 染色及 Sudan black B 或骨髓過氧化酶反應 (myeloperoxidase reaction) 來分別。

FAB 工作群把類骨髓性 (myeloid) 白血病分為下列六種:

M1 — 乃 AML (M 指 myeloid) 缺乏成熟性 (maturation) 有最少的分化, 但屬顆粒性球 (granulocyte) 系列。

M2 — 乃 AML  $\bar{c}$  maturation (成熟性), 以芽母細胞 (blast) 及骨髓前細胞 (promyelocyte) 為主 (dominant) 而已分化至骨髓細胞 (myelocyte) 之程度。此乃和 M1 最大不同處。(本文之 AML 之 M 指 myeloid)。

M3 — 乃急性顆粒過多性骨髓前細胞性白血病 (acute hypergranular promyelocytic leukemia), 此 M3 和 M2 最不同在於有許多含不正常嗜天青顆粒或含許多 Auer 氏桿狀體的骨髓前細胞 (promyelocyte) [ M2 的骨髓前細胞 (promyelocyte) 不含如此多的顆粒 ]。這一個區別很重要, 因為只有 M3 才常有 DIC 的現象相併出現,



許多人懷疑此說法，常是把M2，M3相混淆之故。

M4—急性骨髓性單核性 (myelomonocytic) 白血病，顧名思義，為二種形式的細胞 (顆粒球性 granulocytic 及單核球性 monocytic) 以不一定的比例，不一定的分化程度共存者。一種常見的形式是以下列方式存在—即在末梢血液單核球 (monocytic) 為主而在骨髓內卻呈M1或M2為主之面貌。

M5—急性單核球性 (monocytic) 白血病—此又有分化完全及未分化完全二種，未分化完全多以芽母細胞 (blast) 形式存在，分化完全者多已分化至骨髓前細胞 (promyelocyte) 以上之程度。

M6—乃紅血球性白血病 (erythroleukemia)，這個診斷在骨髓內有相當高的比例之紅血球芽母細胞 (erythroblast) 加上紅血球形成異常 (dyserythropoiesis) 之現象又在末梢血液看到許多紅血球芽母細胞 (erythroblast) 時乃最明顯。

FAB在分類上述白血病，是基於二個條件才成立的，第一個是未治療的病例才可適用上述L1-3，M1-6之分類，治療過的病例不能以此分類。第二是爲了防止一些形態學上有時很易誤診爲白血病的病 (如骨髓形成異常症候群 dysmyelopoietic syndrome)，常需把芽母細胞 (blast) 及骨髓前細胞 (promyelocyte) 合併之數目訂一個高標準作爲界限 (> 50%)。

包括FAB分類法在內，許多白血病的分類都是基於形態學的鑑定，但是人眼鑑別能力有限，如果誤診太大常對病人之治療及預後有相當不利的影響，因此我們接下去所談的是藉許多免疫學及細胞生化學的技巧把白

血病作更精細而準確的分類與鑑別。

## 二、急性白血病細胞的免疫標記 (Immunologic Marker)

T和B細胞的免疫標記在用途及其限制方面已是大家都知道的事，近來因爲許多新的抗原及酵素的認識及運用已大大拓寬白血病細胞鑑定方面更大的領域，免疫標記尤其對淋巴母細胞性 (lymphoblastic) 白血病及免疫增殖 (immunoproliferative) 缺陷之細胞鑑定更具價值。

表一列出鑑定芽母細胞 (blast) 的方法，很多都是傳統形態學診斷所未作到的，而它們在準確鑑定方面扮有重要的角色。

### A 無表徵細胞白血病 (null cell leukemia)

一個被診斷爲A.L.L.的細胞以前常被施以表面結合免疫蛋白及羊紅血球 E-rosettes 來分爲B型，T型或無表徵型，75% A.L.L. 的病人缺乏B或T標記而被冠以無表徵急性白血病的名稱，這一種無表徵A.

表一 鑑定芽母細胞 (blast cell) 的方法。

| Method              | Application/Findings  |
|---------------------|---|
| Morphology          | French-American-British group classification  |
| Cytochemistry       | Peroxidase, Sudan black B, NAD(P)ase, NASDA*, NASDA + NaF, alkaline phosphatase, periodic acid-Schiff, lysozyme         |
| Electron microscopy | Morphology and cytochemistry (peroxidase and acid phosphatase)  |
| Surface markers     | E-rosettes, membrane immunoglobulin, anti-T and anti null acute lymphocytic leukemia sera (Greaves), Fc and O receptors |
| Biochemistry        | Terminal transferase, serum IgG   |
| Cytogenetics        | Ph <sup>1</sup> chromosome  |

\* Esterase stain with naphthol-ASD acetate as substrate.  
† Esterase stain with naphthol-ASD acetate as substrate in the presence of sodium fluoride inhibition.

表二 由表面標記作ALL的分類。

| Surface Markers | Classification                                | Morphology                             | Antinull ALL seen       |
|-----------------|---|--|-------------------------|
| Absent          | Null-ALL<br>Childhood type<br>Adult type      | L1 (75% of cases)<br>L2 (68% of cases) | Positive (72% of cases) |
| T-markers       | T-ALL   | Variable (L1 or L2)                    | Negative (50% of cases) |
| B-markers       | B-ALL<br>Burkitt's type<br>Lymphosarcoma type | L3<br>L2, rarely L1                    | Negative                |



如同上述，大多數小孩有L1型，大多數大人屬L2型；以前對無表徵A.L.L.之診斷乃基於E-rosette之B&T標記產生的“陰性結果”(negative findings)作診斷，現在已可用抗無表徵A.L.L.血清之“陽性結果”作診斷，這些由表二可看出。

爲了要了解抗無表徵A.L.L.血清反應之陽性或陰性在臨床及細胞生化方面是否有差別，一個報告在表三，表現二個的比較。

表三 兩群成人型無表徵ALL的比較

| Reactivity with Anti-ALL Serum                         | ALL Negative | ALL Positive |
|--|--------------|--------------|
| Number of patients                                     | 9            | 9            |
| Blast cell count greater than $100 \times 10^9$ /liter | 0            | 6            |
| Complete remission with ALL-type treatment             | 7/7          | 5/7          |
| Elevated Tdt*  | 0/1          | 3/3          |
| Ph <sup>1</sup> positive                               | 0/3          | 2/7          |

\* Terminal deoxynucleotidyl transferase.  
 † One additional patient was not included because only 3% of Ph<sup>1</sup>(+) cells were seen and handling could not be done.

1 在陽性的白血球細胞數有大於  $100 \times 10^9$ /liter 者乃  $\frac{1}{3}$  而在陰性反應的方面則無一大於此值。但以相同藥物治療的初步反應則無太大區別。

2 Terminal deoxynucleotidyl transferase (簡寫爲Tdt)是在鑑定此無表徵ALL一個很重要的工具。正常人Tdt的含量在胸腺細胞(thymocyte)內很高，在血液中之T或B淋巴球則無。在無表徵A.L.L.(大人或小孩型)常可見到Tdt含量很高，在T-A.L.L.(E-rosette陽性)也很高，表三也可發現抗無表徵A.L.L.血清陽性的病人含高Tdt的機會比陰性者大。

3 由表三可見一些成人無表徵A.L.L.含有陽性Ph<sup>1</sup>染色體這是一個

很重要的現象，因爲含Ph<sup>1</sup>陽性的C.M.L.病人在其芽母細胞形態轉化(blast transformation)時可以發現含有高值的Tdt或A.L.L反應陽性；由上面兩個現象可以推測C.M.L.和上述無表徵A.L.L.有共同的原始母細胞(stem cell)，而Tdt及A.L.L.的免疫標記(marker)是這種全能pluripotent(prethymic & premyeloid)原始母細胞的特徵標記之一。這是在推測此二大類白血病的母細胞來源的說法中一個很令人注意的事實。

## B. T細胞白血病 (T-Cell leukemia)

T-細胞白血病的經過和預後和下列三點有關：前縱膈腔腫塊、高白血球數、老年人。實驗顯示酸性磷酸酶(acid-phosphatase)反應是T-A.L.L.的一個細胞生化標記。由表四我們在六十五個病人的一項雙重盲目試驗(double-blind)研究中，先用過氧化酶反應(oxidase reaction)分別A.L.L.或AML，由表四我們可以看到五十一個無表徵A.L.L.中只有一個人酸性磷酸酶(acid-phosphatase)呈陽性(此病人是六歲女孩有脾腫(splenomegaly)及淋巴腺病變(lymphadenopathy)但無前縱膈腔腫塊，白血球  $683 \times 10^9$ /liter，過氧化酶(oxidase)陰性，抗-T血清陰性)，除此病人外所有的無表徵A.L.L.的酸性磷酸酶(acid-phosphatase)均陰性。而八個T-A.L.L.的病人卻全部陽

性，此外也有四個A.M.L.呈陽性。

酸性磷酸酶(acid phosphatase)在T-A.L.L.之重要性乃因爲下列二點而加強：

1 傳統的E-rosette試驗偶而在T-A.L.L.病人造成陰性的結果。

2 另外一些T-A.L.L.可能形成E-rosettes及EAC-rosettes而後者在最近被認爲B淋巴球(B-lymphocyte)及單核球(monocytes)之特異性之一。

因此在rosette形成試驗用以診斷T-A.L.L.時如發生混淆時，酸性磷酸酶(acid phosphatase)是一個相當好的鑑別法。

表四

ALL的酸性磷酸酶之雙重盲目試驗。

Table 4. Double-Blind Study on the Value of Acid Phosphatase in Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) (65 Patients)

| Classification             | Acid Phosphatase Reaction |          |
|----------------------------|---------------------------|----------|
|                            | Positive                  | Negative |
| Null-ALL                   | 1*                        | 50       |
| T-ALL                      | 8*                        | 0        |
| B-ALL                      | 0                         | 2        |
| Acute myelogenous leukemia | 4                         | 0        |

\* More than 70% blasts strongly positive; reaction localized to the Golgi region.

## C. B細胞白血病 (B-cell leukemia)

B細胞(B-cell)之表面免疫球蛋白仍爲測定B-細胞之最可靠方法。比起非Hodgkin淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)而言，一般B-細胞(B-cell)很少在A.L.L.中出現(無表徵細胞null cell多)，它可能代表分化極差一種淋巴瘤(lymphoma)的白血病階段(leukemic phase)，請再看表二，我們將之分成二種：



1 Burkitt 型—在小兒及年輕人較多，可能和所謂非非洲型而散在性的 (non-African sporadic) 或非地方流行性的 Burkitt's 淋巴瘤 (nonendemic Burkitt's lymphoma) 的 (advanced type) 進展型一致，而比非洲型更易演進至白血病。

2 淋巴肉瘤 (Lymphosarcoma) 型—較常見於五十歲以上，而常是分化很不好的形式出現。

認識人類B淋巴球的同族異體抗原 (和HLA-D位置 locus 有關) 十分重要，它們又被命名為 Ia 抗原，是存於末梢血液中的B淋巴球，單核球 (monocyte)，CLL，AMLL 中，但不存於T淋巴球，T-ALL。這些 Ia 抗原可以懷孕的人的血清，兔子的抗脾細胞膜血清及一種對人體B細胞系列 (B-cell line) 的醣蛋白 (glycoprotein) 之血清測定出來。由於它在許多不同細胞中存在，所以它可以是一個早期分化抗原而不一定是一個白血病細胞的B細胞異型 (B-cell deviation)。

### D 單核性白血病 (Monocytic leukemia)

1 在早期成熟過程中的單核球母細胞 (monoblast) 及單核前細胞 (promonocyte) 可以表現一個嗜細胞抗體 (cytophilic antibody) (IgG 的 F<sub>c</sub> 部分) 和免疫粘附作用 (immune-adherence) (C3b) 的結合器 (receptor)，這種結合器在成熟的單核球中都有，可以用 rosette 形成法或紅血球吞噬現象 (

erythrophagocytosis) 的方法測出來。

2 選擇性的釋放溶菌酶 (lysozyme) 到四周之媒介物乃另外一個用來分別單核性母細胞 (monoblast)、單核前細胞 (promonocyte) 和骨髓芽母細胞 (myeloblast)、淋巴芽母細胞 (lymphoblast) 的方法。利用這個原理有 50-100% 的白血病單核球 (leukemic monocyte) 在所謂 "cytobacterial test" 呈陽性，此試驗法和 M4 (骨髓性單核球性 myelomonocytic)，M5 (單核球性 monocytic)，

以及慢性骨髓性單核性白血病 (myelomonocytic) 白血病的病人血清及尿液中高濃度的溶菌酶 (lysozyme) 有密切的關係。

綜合本節所述我們可以得到一個結論那就是常用的新或舊的免疫標記在定性一個白血病細胞可能互相重疊，也有些具特異性存在。好幾種標記應該和傳統的形態學及進步的細胞生化學合作以求儘可能得鑑定白血病和把分類做得更好，更特別是在一些尚未完全了解的白血病 (如成人之無徵 A.L.L.) 之探討工作上更重要。

## 三、細胞化學 (Cytochemistry) 在白血病所扮演的角色

雖然 FAB 的分類是在最近才發表，不能依之見到太多臨床的配合，但是最近已有一大系列的 A.L.L. 及 non-A.L.L. 運用相似的形態學分類及細胞免疫學的原理去再分類及設立預後的標準的研究出現。

有一個關於非淋巴型白血病 (nonlymphocytic leukemia) 的形態學及細胞生物學的合作以探討二者之相互關係之研究值得在這裏介紹一下。所謂非淋巴型 (non-lymphocytic) 白血病包含 FAB 的 M1—M6 再加上 CML 的 "芽母細胞危象" 的集合，這些病人除形態學之傳統病理鑑定外，每一位病人至少要送六片未染色的骨髓塗抹片去做細胞化學試驗—包含 Wright 染色方法以及過氧化酶 (peroxidase)，PA

S 染色及非特異酯酶 (nonspecific esterase) 染色 (使用 naphthol-ASD acetate 加上以及不加上其酶抑制物—氟化鈉)。下面我們分別討論：

### 1. P. A. S. (periodic acid schiff 反應)

它是細胞內之醣類鑑定試驗之一，含肝醣 (glycogen)，粘多糖類 (mucopolysaccharide)，粘蛋白 (mucoprotein)，醣蛋白 (glycoprotein)、醣脂肪 (glycolipid) 之測定，因為肝醣存在



全部顆粒球 (granulocyte)，大部份單核球 (monocyte)， $\frac{1}{3}$  的淋巴球 (lymphocyte) 中，PAS 在一般白血球常呈陽性，但在這些正常白血球的前驅細胞 (precursor) 卻少有陽性，相對地至少有一部分甚至許多的 A. L. L. 芽母細胞 (blast) 有陽性，因此可以用以輔助 A. L. L. 及 non-ALL 之分別。但臨床上，雖有許多 non-ALL 是 PAS 陰性，仍有大約  $\frac{1}{3}$  的 AML，60% 的急性骨髓性單核性白血病 (myelomonocytic) 白血病，80% 急性單核性 (monocytic) 白血病有陽性反應。

## 2. 過氧化酶 (peroxidase)

骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase) 存在顆粒球 (granulocyte) 及單核球 (monocyte) 但不存於淋巴球 (lymphocyte) 在顆粒球 (granulocyte) 及單核球 (monocyte) 此酶之能力即以原始顆粒 (primary granules) 或嗜天青顆粒 (azurophil granules) 表現。它可以把受酶質變成高度穩定有色化合物，如常用之 benzidine 可作用成藍色或褐色。下面是各種白血球的過氧化酶 (peroxidase) 能力：

顆粒球 (granulocyte) 一由骨髓前細胞 (promyelocyte) 至多核白血球 (PMN leukocyte) 均有。

嗜伊紅性球 (eosinophil) 一陽性 (positive)

單核球 (monocyte) 一最小 (minimal) 至中等陽性 (moderate)

rate positive)

淋巴球 (lymphocyte)、漿細胞 (plasma cell) 一不反應 (non-reactive)

嗜鹼性白血球 (basophil)，肥大細胞 (mast cell) 一陰性 (negative)

因此在 A. L. L. 之過氧化酶 (peroxidase) 是陰性，而且如果芽母細胞 (blast) 數目中有 3% 呈過氧化酶 (peroxidase) 陽性則可認為是 non-A. L. L.，這一個分野對於一些形態學上不清楚的急性白血病之分類頗有助益。

所有急性骨髓 (myeloid) 及骨髓性單核性 (myelomonocytic) 白血病是過氧化酶 (peroxidase) 陽性而一半的急性單核性 (monocytic) 白血病呈陽性。

## 3. 非特異胞質酯酶 (non-specific cytoplasmic esterase)

此為一種分割萘置換酯 (naphthol-substituted ester) 放出萘 (naphthol) 和一種 diazo 的染料，例如我們常用 naphthol - ASD acetate 作受酶質而 fast blue BBN 作染料會形成在此酯酶 (esterase) 活動力所在的細胞內呈藍色不溶物，而用氟化鈉是其酶抑制物 (enzyme inhibitor)。這酶由許多 isoenzyme 組成，而氟化鈉對單核球 (monocyte) 及其前驅細胞 (precursor) 之酯酶 (esterase) 抑制力最大，對顆粒球 (granulocyte) 與類淋巴細胞 (

lymphoid cell) 及其前驅細胞 (precursor) 之抑制力小甚至無。恰好 naphthol - ASD acetate 之反應在單核球 (monocyte) 最強，顆粒球 (granulocyte) 次之，類淋巴細胞 (lymphoid cell) 最弱，因此由下列二點可用以有效地區別單核性 (monocytic) 及其他骨髓性 (myeloid) 白血病：

(1) 用 Naphthol - ASD acetate，急性單核性 (monocytic) 白血病有最強的陽性反應，但施以氟化鈉強烈地減少其陽性。

(2) 在急性骨髓性 (myeloid) 白血病其陽性不太被氟化鈉所抑制，而在急性骨髓性單核性白血病 (myelomonocytic leukemia)，此抑制程度仍很明顯存在。(見表五)

表五 急性白血病的細胞學反應

| Reaction                    | Type* | M <sub>1</sub> | M <sub>2</sub> , M <sub>3</sub> | M <sub>4</sub> | M <sub>5</sub> | L <sub>1-3</sub> † |
|-----------------------------|-------|----------------|---------------------------------|----------------|----------------|--------------------|
| Peroxidase or Sudan black B |       | ++             | +++                             | ++             | +/-            | -‡                 |
| NASDA§                      |       | +              | ++                              | +++            | +++            | +/-                |
| NASDA-fluoride              |       | +              | ++                              | +++            | +/-            | +/-                |
| Periodic acid-Schiff        |       | +/-            | +                               | +++            | +++            | +++/-              |
| Lysozyme                    |       | -              | +                               | ++             | +++            | -                  |

\* Classification used in Reference 10.  
 † One plus greater than 3% cells positive; two plus greater than 25% cells positive; three plus greater than 50% cells positive.  
 ‡ No reactivity.  
 § Naphthol ASD chloroacetate (NASDA) as substrate for determination of esterase activity.

綜上所述可列表如下：

| 白血病                           | 過氧化酶 (peroxidase) | naphthol-ASD acetate | 氟化鈉抑制作用 |
|-------------------------------|-------------------|----------------------|---------|
| AML (M1-M3)                   | 陽性                | 陽性                   | 不被抑制    |
| 骨髓性單核球性 (myelomonocytic) (M4) | 陽性                | 陽性                   | 不一定     |
| 單核球性 (monocytic) (M5)         | 陽或陰性              | 強陽性                  | 明顯被抑制   |

最後談到治療和形態學或細胞化學之診斷是否有關，我們由表六可以看出二種方法診斷出來的白血病其治療痊癒率及生存率並無太大的差異，而最主要的骨髓性 (myeloid) (M1-M3) 和骨髓性單核性 (myelomonocytic) (M4) 二大群白血病的治療反應率及生存率並無很大差異。關於M1-3和M4何者預後較佳 (有人以為M1-3較好)? M5是否有不良的預後 (有人認為由細胞形態cytomorphology方面之診斷，M5並無不好預後)? 各人的

說法不甚一致，但是由統計學分析的結果M1-3 (骨髓性 myeloid)，M4 (骨髓性單核球性 myelomonocytic)，M5 (單核球性 monocytic) 的治療反應率及生存率並無顯著的差異，如果一定要這些問題有確定答案，那只有靠時間與努力來做最後的解答。

回到我們提到的用形態學及細胞化學來作 non-A. L. L. 的診斷，利用上述介紹的細胞化學，在所有病人中 55 % 有形態學診斷及細胞化學診斷呈完全一致。其他的結果如下表比較

| *用形態學診斷為：<br>(morphology) |     | 用細胞化學診斷為：<br>(cytochemistry) |
|---------------------------|-----|------------------------------|
| M1-M3                     | 40% | 42%                          |
| M4                        | 49% | 45%                          |
| M5                        | 1%  | 7%                           |

\*其他百分比乃M6及CML之芽母細胞危象 (blast crisis)

表六 以形態學和細胞生化學分類的白血病的化學療法反應。

| Investigator morphologic diagnosis                        | Evaluable  | Complete Response (%) | Survival (%)        |      |
|---|------------|-----------------------|---------------------|------|
|   |            |                       | Decreased/Evaluable | Mean |
| Acute myeloid leukemia (M <sub>1</sub> -M <sub>3</sub> )* |            |                       |                     |      |
| Acute myelomonocytic leukemia (M <sub>4</sub> )           | 10/41 (24) | 35/41                 | 43                  |      |
| Acute monocytic leukemia (M <sub>5</sub> )                | 16/46 (35) | 40/46                 | 43                  |      |
|   | 2/7 (29)   | 7/7                   | 00                  |      |
| Cytochemical diagnosis                                    |            |                       |                     |      |
| Acute myeloid leukemia (M <sub>1</sub> -M <sub>3</sub> )  | 11/33 (33) | 27/33                 | 58                  |      |
| Acute myelomonocytic leukemia (M <sub>4</sub> )           | 12/35 (34) | 32/35                 | 48                  |      |
| Acute monocytic leukemia (M <sub>5</sub> )                | 3/5 (60)   | 5/5                   | 00                  |      |



# 第二部份：白血病誘因之研究

陳銘仁 薛錫堂

## 一、philadelphia 染色體與白血病

### A、可做為診斷依據的Ph<sup>1</sup>染色體

人類白血病的成因大致可歸類為三種：遺傳、放射線照射和病毒感染。有關放射線的因素，我們可以從二次世界大戰原子彈在日本爆炸後，長崎和廣島兩地白血病患者數目劇增的事實得到證明；而且，很奇怪地，暴露於放射線下隨後引起的白血病幾乎全是骨髓性白血病。本文第三部分將報告一個急性骨髓性白血病的實例。病毒感染所致之白血病只在動物實驗中得到證明，它在人類白血病因中的角色，到目前為止，僅止於推測罷了。至於遺傳因素，則更不敢遽下定論了。我們雖然尚無法確切瞭解遺傳染色體在白血病因中所占的地位，但是卻可以利用白血病細胞染色體的變化做為診斷的依據。

人類的白血病細胞中常伴有染色體的變化，這已是不爭的事實。幾十年來，無數的科學工作者在這方面投注了不少的精力，為的是確認：這些白血病細胞的染色體有著什麼樣的變化？其中有無特殊之“標記”可循？那些“標記”又代表著什麼意義？截至目前，大家都已經知道慢性骨髓性白血病（CML）和Philadelphia（Ph<sup>1</sup>）染色體，慢性淋巴性白血病（CLL）和Christchurch（Ch<sup>1</sup>）染

色體，以及急性白血病和不整倍體（例如Down氏綜合病徵〔21三染色體〕）間的關係。但是，隨著日新又新的文獻的發表，後二者的關係逐漸受到懷疑，唯有Ph<sup>1</sup>染色體仍被公認對CML的診斷較具特异性。

Ph<sup>1</sup>染色體乃第22對體染色體的長臂之一因刪失（depletion）或轉位（translocation）而缺少一部分所成。此種染色體為Nowell和Hungerford於1960年首先報告，由於是美國費城（Philadelphia）的研究者所發現的，因此被稱為Philadelphia染色體，簡寫為Ph<sup>1</sup>染色體。據統計，CML的病人中，95%以上其白血病細胞含有Ph<sup>1</sup>染色體。至少部分CML的病人血液細胞中不含Ph<sup>1</sup>染色體，有人認為此乃非典型之CML；這種非典型的CML通常發生於65歲以上的男性，他們可能只有較短的存活期且白血球的數目也較少。因此，我們可以說Ph<sup>1</sup>染色體乃CML白血病細胞之“標記”，雖然不是百分之百。

至於這個“標記”所代表的意義，到目前為止還不很清楚。不過有一點可以確知的是，CML病人的嗜中性白血球之鹼性磷酸酶活性（alkaline phosphatase activity of neutrophils〔NAP〕）值非常的低。似乎是因為調節鹼性磷酸酶活性的特殊基因隨著長臂的刪失或轉位而失

去了。這可以用Down氏綜合病徵（21三染色體）的中性白血球有著較高的鹼性磷酸酶活性值得到部分證實。不管怎樣，CML中性白血球低的NAP對我們鑑別診斷類白血病性反應（leukemoid reaction）和極度的白血球過多症（leukocytosis）是很有幫助的。

對於CML和Ph<sup>1</sup>染色體的因果關係，由於染色體的變化只出現於白血病細胞，其他表皮細胞或淋巴、纖維細胞中並不存在，因此現今的觀念認為Ph<sup>1</sup>染色體的變化可能繼續發於白血病的發展過程，而非CML之成因。

### B、原來它也有份——人類巨噬細胞內的Ph<sup>1</sup>染色體

如前所述，CML的Ph<sup>1</sup>染色體僅見於成血細胞，諸如紅血球、顆粒球和巨核球（megakaryocyte）的先質細胞；纖維等細胞或淋巴細胞內是沒有這種東西的。雖然單核球和顆粒球可能源自同幹細胞（stem cell），但是過去一直沒有Ph<sup>1</sup>染色體存在單核球—巨噬細胞系（monocyte-macrophage complex）內的直接證據。

我們都知道，組織內的巨噬細胞部分是從骨髓內的原單核球（prom-



onocytes) 衍化來的。如果這種巨噬細胞的先質細胞內含有 Ph<sup>1</sup> 染色體，那麼在臨床及生物學上我們便可用以探知，在 CML 的病程期間這些細胞是否會跑到人類的網狀內皮系內。

在 1977 年 David W. Golde 等人利用液態組織培養和細胞化學，細胞發生的技巧研究三個未經治療而各在不同病期 (phase) 的 CML 病人的骨髓細胞，得到了衍發自骨髓的巨噬細胞具有 Ph<sup>1</sup> 染色體的證據。

三個 CML 病人各在慢性期，芽細胞危象 (blast crisis) 期和加速期 (accelerated phase)；他們的骨髓細胞在利於巨噬細胞增殖的情況下培養並做細胞發生和細胞化學的研究。結果發現所有經過觀察的分裂中期 (metaphase) 的細胞都具有至少一個的 Ph<sup>1</sup> 染色體，其中 80% 以上的細胞可被確認為巨噬細胞。第一和第三個病人的骨髓細胞各含有一個典型的 Ph<sup>1</sup> 染色體，第二個病人增殖中的成血細胞則含有一個雙重的 Ph<sup>1</sup> 染色體 (double Ph<sup>1</sup> chromosome) 和一個有標記的染色體 (圖 1)。也許有人認為只有顆粒球的先質細胞 (少於檢視細胞數的 20%) 在分裂中期才能被分析研究，巨噬細胞的 (大於 80%) 則否，因此我們所研究觀察的全是顆粒球的先質細胞，但這種可能性實在太小了。

由於 1976 年 Thomas ED 等人證實了在人類同種異體 (allogeneic) 的骨髓移植後，移植的骨髓細胞經過增殖衍發後有些跑到接受移植者的肺臟，形成肺泡巨噬細胞 (alveolar macrophages)，我們可遽以推論，對於 CML 的病人而言，其體內的許多組織巨噬細胞可能來自白血病細胞

群。而且由於組織巨噬細胞具有增殖能力，它們可能參與進一步的白血病細胞群演化。

### C、一個急性骨髓性白血病的實例——第九和 22 號染色體易位所造成的 Ph<sup>1</sup> 染色體

雖然有人將不含 Ph<sup>1</sup> 染色體的 CML 歸類為非典型的一群 (前述)，但這並不表示 Ph<sup>1</sup> 染色體和 CML 已是一對一的「專利」關係了。因為有些情形如急性骨髓性白血病 (AML)，多血症，骨髓纖維化，「本態性血小板過多症」和紅血球白血病 (erythroleukemia) 也可能出現 Ph<sup>1</sup> 染色體。我們無法逐一解釋其原因，不過以下將先提出一個具有 Ph<sup>1</sup> 染色體的 AML 病例並加以討論和試做解釋。

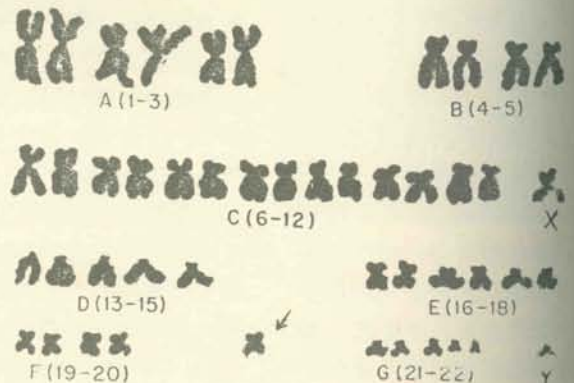
這是一個 1974 年四月 22 日住進日本千葉縣河哲綜合醫院的 51 歲男性銀行職員。住院時主訴全身倦怠並出

現紫癍 (一個月)。他在 1945 年 1 月 6 日曾暴露在廣島的原子彈爆炸中，距爆炸中心地面 (hypocenter) 4.8 公里之處，且隨後數小時他距中心地面並待了半天。

1963 年他得到 Japan Ministry of Health and Welfare 發行的「原子彈爆炸受難者健康手冊」(Handbook of Atomic Bomb Explosion Sufferers)，並一直接受每年兩次的甄別檢查到 1973 年。結果病理檢查沒有任何不正常的發現，也沒有貧血，白血球數目為  $4.0 - 7.0 \times 10^9 / l$ 。

住院時，體溫  $37.4^{\circ}C$  而血壓  $110 - 70 mmHg$ 。結膜稍貧血，但無淋巴腺病或肝脾腫大。四肢散佈有紫點。胸部 X 光和心電圖沒有異常發現。血液學檢查如下：血紅素 8.5g/dl；紅血球  $2.95 \times 10^{12} / l$ ；血球比容 27%；血小板  $20 \times 10^9 / l$ ；白血球  $234 \times 10^9 / l$ ，其中成髓細胞 (myeloblast) 占 88%，bands 1%，neutrophils 1% 而淋巴球 10%。在

圖 1



第二個病人的核型顯示二個 Ph<sup>1</sup> 染色體和標記染色體 (箭頭所示)。[取自參考資料 6]

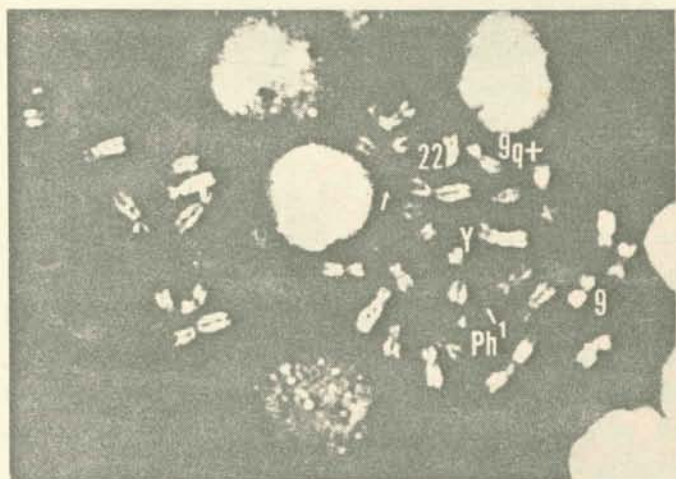


髓抽吸物中，帶核的細胞有  $58 \times 10^4 / \text{cu mm}$ ，其中成髓細胞占 90.5%，前髓細胞 (promyelocytes) 0.5%，髓細胞 (myelocytes) 0.5%，後髓細胞 (metamyelocytes) 0.5%，分葉的中性球 0.5%，淋巴球 6.0%，成紅血細胞 (erythroblasts) 1.0% 而網狀細胞 (reticulum cells) 0.5%。所有的成髓細胞都是白血病細胞。沒有過氧化物酶反應 (peroxidase reaction)，而中性球的鹼性磷酸酶活性值 (NAP) 依友永等人的方法測得為 374 (正常為 170 - 330)。嗜鹼性球的絕對計數為 0 而嗜酸性球為  $2 \times 10^3 / \text{l}$ 。血液化學檢查除了乳酸去氫酶為 550 IU 外，其餘在正常範圍之內。血液內含有 C 反應性蛋白質 (C-reactive protein)，血清鐵  $65 \mu\text{g} / \text{dl}$  而血清 Vit B<sub>12</sub>  $760 \text{ ng} / \text{l}$ 。

治療之初的用藥是 prednisolone 80 mg, cytosine arabinoside 40 mg 以及 6-mercaptopurine 100 mg。雖然在住院期間病情曾有兩次不完全的緩解，到了 1974 年 9 月 22 日病人仍然死於肺出血。屍體解剖時發現他的脾臟只有 40g 重而肝臟有脂肪變性。病理診斷為 AML。

有關此病人血液細胞的染色體研究，第一次是在 1974 年 4 月 23 日，即開始治療之前。所用的材料是培養 24 小時而不加 phytohemagglutinin 的末梢血液細胞。同年 5 月 24 日，即開始治療之後一個月直接從胸骨抽取骨髓做第二次的分析。兩次的染色體研究都用 quinacrine 螢光接合技術 (quinacrine fluorescence banding technique) 染色。在 32 個末梢白血病細胞中，有 31 個具有 Ph<sup>1</sup> 染色

圖 2



骨髓細胞的螢光染色，顯示染色較深的 Ph<sup>1</sup> 和染得較淡的 9 號染色體長臂上多出一節。此核型為  $47, XY, Ph^1 [t(9q^+; 22q^-)], +Ph^1$ 。[取自參考資料 6]

體，其中 4 個更具有成對的 Ph<sup>1</sup> 染色體 (double Ph<sup>1</sup>)。染色體的數目有 46 和 47 的，核型亦分別為 46, XY, Ph<sup>1</sup> (11 個細胞)；47, XY, +17, Ph<sup>1</sup> (13 個細胞) 和 47, XY, Ph<sup>1</sup>, + Ph<sup>1</sup> (4 個細胞)。第二次分析的 50 個骨髓細胞都具有 Ph<sup>1</sup>，其中 41 個含有成對的 Ph<sup>1</sup> (染色體數 47)。它們的核型為 46, XY, Ph<sup>1</sup> (9 個細胞)；47, XY, Ph<sup>1</sup>, + Ph<sup>1</sup> (36 個細胞)。具有 Ph<sup>1</sup> 的細胞都顯示了染色體的易位 (9q+; 22q-) (圖 2)。

至於這個病人的染色體變化和暴露於原子彈爆炸之下是否有關；據統計，距爆炸中心地面 1500 公尺以內的範圍內，廣島的 CML 病例比長崎多，此乃因在廣島爆炸的是較重的中子。距離爆炸中心地面較遠的則白血病的頻數和種類便沒有多大的差別了此病人距爆炸中心地面較遠且據估計大約只受到 6 rads 的照射，因此我們無法證明他的 AML 和原子彈的爆炸有關。

有關具有 Ph<sup>1</sup> 的 AML 的理論有兩種。第一種說法是 Mastrangelo 等所謂的“流產性 CML” (abortive CML) 之前的芽細胞期 (blastic phase)，它在各方面看來都頗似 AML，但其實不是 AML。另一種說法是 Ph<sup>1</sup> 染色體不只存在於 CML 和有關的疾病中。

對我們這個病例而言，病人本來並無出血傾向，也沒有貧血，且白血球數目正常；自 1963 年 11 月到死亡之間也無肝脾腫大。他的症狀發作很突然，NAP 並沒有降低，嗜鹼性球非常少且血清 Vit B<sub>12</sub> 正常；因此這個病例診斷為 AML 毫無疑問，但是他具有 Ph<sup>1</sup> 也是事實。

有關 AML 的染色體研究已經有許多人都做過了，但是至今仍無特別的發現；大家都知道 Ph<sup>1</sup> 染色體對 CML 有較高特異性，不過這個病例可以提醒我們，偶爾也會出現一些具有 Ph<sup>1</sup> 的 AML。



## 二、病毒與白血病

### 一、源起：

在本世紀前葉，對於致癌原因的研究仍着重於遺傳與基因方面，「病毒致癌說」在1908年開始有人提出( Ellerman )，但並沒有受到重視，直到近幾十年來，由於電子顯微鏡的發展與科技的進步，對於組織細胞不僅能切薄研究，且能將病毒微粒( particle )經超薄切片( ultra-thin)的技術詳細觀察，依其形態分類。目前發現病毒與白血病的關係有：

1 由實驗室的白血病老鼠分離出的一種病毒( polyoma-virus )，經接種於組織培養後，可在數種動物身上引起惡性腫瘤。

2 在患有急性白血病人身上的淋巴腺可由電子顯微鏡觀察到與實驗白血病動物中所得到的病毒類似。

3 經由免疫的技術，利用螢光抗血清的研究，可在白血病患身上的血癌細胞中偵察到病毒抗原。

4 某些白血病的區域散佈似與病毒的流行性有關，例如Burkitt氏淋巴瘤好發於6~7歲的非洲小孩。

當然，在教科書上早已列出在猴、猴、雞、貓可用病毒使其發生白血病；但是即使在某些白血病患身上找不到病毒，也沒有人敢就如此否定「病毒致癌說」，因為病毒究竟太小了，而且科技方法也無法十全十美。

### 二、致癌病毒：

在腫瘤分離出的病毒一般在80~160nm，常是圓型或橢圓型，具有兩層或多層外殼，有些具有電子不能透過的核狀物( electron-dense nucleoids )；根據Bernhard的分類，共具有A、B、C三種型式( 另有人將猴子身上的M-MP病毒命為D型)。Bernhard形容A型病毒為“

doughnuts”，中間空空如也，可在細胞內部發現，這種病毒與宿主的關係並不完全明白；其次，在老鼠乳癌( mouse mammary tumors )的細胞間隙裡，有B型病毒，此種病毒的核狀物( electron-dense nucleoid)偏在一旁；與白血病最有關係的為C型病毒，具有大的，位於中間的核狀物( electron-dense nucleoid )，更進一步的研究，可發現C型病毒有具核狀物的成熟型與不具核狀物的未成熟型，B型與C型病毒的生殖方式是由膜“發芽”而產生子代。一個標準的C型病毒是球狀微粒，直徑約100nm，在傳統利用病毒導致動物白血病的體內所發現的概為此種。B型與C型具RNA核心，因為現在我們已有了反轉錄酶( reverse transcriptase)的觀念，亦即依賴RNA dependent DNA polymerase聚合酶，由RNA可以合成DNA，於是經病毒導致宿主的變異。另外疱疹( herpes)群病毒在近年來漸被重視，因其「致癌潛伏能」逐漸被揭發；這種病毒在許多實驗室被證實與人類白血病與淋巴瘤有關。

### 三、病毒導致白血病的觀察：

在一連串的發展研究中，C型病毒微粒在狒狒與恆河猴的胎盤發現，更有趣的是在人類的胎盤也發現了，類似C型病毒也陸續地在其他不同種類的動物胎盤裡找到，這個事實意味著潛伏的致癌病毒可垂直地由一代傳至下一代，在這個傳達的過程中，有些病毒可能失去其特性，但有些病毒可因此而連結入宿主細胞的基因組合裡，而導致這些細胞將來的變性，不管如何，這只是個假設，而這個假說的觀念是：根據片段段的研究事實與推論中，致癌病毒可垂直地經由上一代傳給下一代，而此種病毒在包括

人類在內的許多宿主裡常常一直是伏著而且是無害的，一旦被內因性或外來因素所激發，例如致癌性化學物質、一些賀爾蒙、抑制宿主免疫的藥物，或者放射綫等；這些病毒變成致病性而且導致白血病或其他的腫瘤。另有人更具體地將C型病毒分成兩類，一類是內因性病毒，不具傳染性，由垂直傳播；另一類是外生性病毒，具傳染性，由水平傳染，與宿主DNA結合，再利用宿主的核酸及其他物質，與DNA dependent RNA polymerase，造出許多C型病毒，同時，使宿主細胞產生病毒特異性抗原，甚至將宿主細胞轉變成癌細胞，就白血病而論，可能是侵入的病毒，影響到白血病的基因組合，使其成熟作用發生缺損，而連續增殖成許多白血病細胞。但不管如何，在自然的生命過程中，致癌病毒並不常導致腫瘤的發生，絕大多數一直是在其宿主終身潛伏著，其中有些時候，也可能引導一些與腫瘤沒有關係的疾病，這種病可以是漸進性，也可以是一過性的。

### 四、後記

在許多的文獻裡，我們可以發現致力於病毒與白血病關係的研究愈來愈多，而且其成果也相當可觀，至少在實驗過程裡，我們已漸能肯定病毒與白血病的確有關係，但仍沒有人能提出完完全全直接的證據；無論如何，病毒是無孔不入的，C型病毒或許只是世界上許多致癌病毒中被發現的一小群；由早期在動物身上利用病毒致癌到近年來實際由白血病患分離出的病毒中，C型病毒一直扮演著很重要的角色，但其詳細的機轉說明在目前只是個假說；事實上，病毒致癌也只是在許多致癌假說裡佔一席之地而已。



### 三、放射線與白血病

在日本受過原子彈的洗禮後，曾被照射過的地區內白血病的患者增加，另外治療脊椎粘結炎症（ankylosing spondylitis）時，應用放射線照骨髓後，這種病人得白血病的機會超過常人，此外，在接觸過苯（benzene）和氯黴素（chloramphenicol）的病人，也很容易得到白血病，這些事實說明了當骨髓受損傷後，可能經一種不適當的“適應”反應，而造成了血球細胞的不停增殖；我們知道白血病與放射線有關，但要曝露在放射線下多久？接受放射線多少？以及骨髓的變化過程到底如何？近幾十年內一直有陸陸續續的報告：在Argonne 國家研究中心的一群人員做了一次長期而且大規模的觀察，或許由這個實驗裡我們可以看出一點端倪。以下是實驗的內容：

#### 一、前言：

人類突發骨髓增生失調（myeloproliferative disorders；MPD）的機會不是很罕見，其造成的原因可能是致癌病毒或化學物質。相反地，在實驗動物裡，自然突發產生MPD的機會相當低，因此在實驗室裡，使動物發生MPD皆認為其有意義。beagle dog 是一種垂耳矮腳可愛的小獵狗，這個實驗動用了六十一隻四百天大的此種獵狗；身體健康良好，而且各種生長條件控制儘量相同，其中五十三隻分成三組實驗，其餘的為對照組；每天各組在不同劑量下照射二十二小時，其放射線是使用 $Co^{60}$  gamma 射線（限於篇幅，只將重要

的結果記下）。

#### 二、結果：

(1)第一組：每天照二十二小時，放射線為十七R；共十三隻。

結果：2隻發生白血病（leukemia），約曝露270天。

7隻死於敗血病（septicemia）。

4隻死於再生不能性貧血（aplastic anemia）

（一般照射天數平均139~270天）。

(2)第二組：每天照二十二小時，放射線為十R；共十六隻。

結果：7隻發生白血病（leukemia）（近400天）

7隻死於再生不能性貧血（aplastic anemia）（264天）。

1隻死於乳癌（mammary cancer）（1332天）。

1隻發生淋巴增生性疾病（lymphoproliferative disease）（1966天）。

(3)第三組：每天照二十二小時，放射線為5R；共二十四隻。

結果：11隻有白血病（leukemia）（連續曝露約3年）。

4隻有再生不能性貧血（aplastic anemia）。

3隻發生非白血病性惡性腫瘤（nonleukemic malignancies）（例如，骨原性肉瘤osteosarc-

oma）。

其餘死於變性性疾病（degenerative disease）（例如：肝變性hepatic degeneration）。

在五十三隻獵犬裡共二十隻受照射而引起白血病，其中十五隻為髓原性白血病（myelogenous leukemia）五隻為紅血球性白血病（erythro-leukemia），至於其組織病理，及血癌細胞簡述於下：

#### 三、周邊血液像：

在發生白血病的二十隻動物裡，在照射的過程中其血相圖的變化有很相似的地方；在剛照射的早期，所有的獵犬都發生嚴重的白血球及血小板缺乏，一直到輻射量累積達2000R時，其血球量繼續下降，而很多獵犬死於再生不能性貧血（aplastic anemia），有些死於併發的敗血病，過了2000R以後，倖存者的造血能力逐漸恢復，白血球與血小板勉強維持在正常值的一半以內，在這期間並沒有發現有奇形異狀的血球。在死於白血病前的平均二百至四百天時，大多數的獵犬有血小板值的異常浮動，約在 $1.5 \times 10^9 \sim 1.0 \times 10^{12}$  / liter 間，在這期間有奇奇怪怪的紅血球出現，包括血球大小不同（anisocytosis），血球形狀不同（poikilocytosis），大細胞增生（macrocytosis），靶細胞（target cells），和具有核的血球，幾隻狗有未成熟白血球出現，但這時仍沒有芽母細胞（blast）。接著，所有的白血病獵犬進入急性發病



表一 死於紅血球性或髓原性白血病之狗的骨髓分類計數(%)

| Dog No.     | Myelo-blast | Pro-myelo-cyte | Myelo-cyte | Meta-myelo-cyte | Band       | Seg-mented | Baso-philic Erythro-blast | Early Poly-chromato-philic Erythro-blast | Poly-chromato-philic Erythro-blast | Ortho-chromatic Erythro-blast | 1000:Cell M:E Ratio |
|-------------|-------------|----------------|------------|-----------------|------------|------------|---------------------------|--|------------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| 1. 1392     | 5.0         | 7.0            | 11.0       | 2.0             | 2.0        | 0          | 13.0                      | 13.0                                     | 16.0                               | 23.0                          | 0.3:1               |
| 2. 1439     | 1.5         | 1.0            | 4.0        | 4.5             | 12.5       | 9.0        | 22.5                      | 10.0                                     | 16.0                               | 11.5                          | 0.6:1               |
| 3. 1469     | 0.5         | 3.0            | 6.5        | 5.5             | 1.5        | 0          | 32.5                      | 23.0                                     | 13.0                               | 8.0                           | 0.2:1               |
| 4. 1453     | 2.0         | 4.5            | 26.5       | 8.5             | 5.5        | 1.5        | 10.0                      | 11.0                                     | 13.5                               | 11.5                          | 1.0:1               |
| 5. 1366     | 0.5         | 3.0            | 5.0        | 5.5             | 4.5        | 0.5        | 18.5                      | 12.0                                     | 18.5                               | 27.5                          | 0.2:1               |
| 6. 1464     | 0           | 5.0            | 13.0       | 12.0            | 40.0       | 10.0       | 0                         | 1.0                                      | 5.0                                | 12.0                          | 4.4:1               |
| 7. 1212     | 40.0        | 11.5           | 13.5       | 5.5             | 10.5       | 2.0        | 0                         | 1.5                                      | 4.0                                | 8.0                           | 5.6:1               |
| 8. 1379     | 0.5         | 2.0            | 10.5       | 18.5            | 31.0       | 22.5       | 0                         | 1.0                                      | 3.0                                | 3.0                           | 11.8:1              |
| 9. 1389     | 7.5         | 3.5            | 22.5       | 8.5             | 28.5       | 8.0        | 1.0                       | 3.0                                      | 3.5                                | 5.0                           | 6.5:1               |
| 10. 1473    | 11.0        | 7.5            | 26.0       | 9.5             | 8.0        | 2.5        | 0                         | 1.0                                      | 6.0                                | 13.5                          | 3.2:1               |
| 11. 1472    | 2.0         | 6.0            | 17.5       | 28.0            | 10.0       | 2.0        | 0.5                       | 1.5                                      | 9.0                                | 5.5                           | 4.1:1               |
| 12. 1397    | 59.0        | 14.0           | 10.0       | 3.0             | 2.5        | 2.0        | 0                         | 0  | 1.0                                | 4.0                           | 17.8:1              |
| 13. 1462    | 5.0         | 4.0            | 37.0       | 13.0            | 10.0       | 12.0       | 0                         | 0  | 8.0                                | 8.0                           | 5.1:1               |
| 14. 1210    | 21.5        | 9.0            | 26.0       | 5.5             | 12.5       | 14.5       | 0                         | 0  | 1.0                                | 0.5                           | 61.5:1              |
| 15. 1382    | 21.0        | 48.0           | 15.0       | 5.0             | 1.0        | 0          | 0                         | 2.0                                      | 4.0                                | 0                             | 20.7:1              |
| 16. 1386    | 2.0         | 12.0           | 23.0       | 19.0            | 20.0       | 13.0       | 0                         | 0  | 3.0                                | 6.0                           | 10.8:1              |
| 17. 1215*   |             |                |            |                 |            |            |                           |  |                                    |                               |                     |
| 18. 1257    | 14.5        | 5.5            | 9.0        | 9.5             | 40.5       | 6.5        | 0                         | 0  | 3.0                                | 7.0                           | 8.3:1               |
| 19. 1394    | 8.0         | 24.0           | 28.0       | 10.0            | 15.0       | 9.0        | 0                         | 0  | 3.0                                | 2.0                           | 16.2:1              |
| 20. 1381    | 9.5         | 14.0           | 35.0       | 7.0             | 6.0        | 8.0        | 1.0                       | 4.0                                      | 8.0                                | 5.5                           | 4.1:1               |
| Control†    |             |                |            |                 |            |            |                           |  |                                    |                               |                     |
| (mean ± SE) | 0.4 ± 0.1   | 1.1 ± 0.2      | 10.6 ± 0.6 | 9.1 ± 0.5       | 15.6 ± 0.8 | 20.3 ± 1.2 | 0.2 ± 0.1                 | 2.9 ± 0.3                                | 16.2 ± 0.3                         | 20.6 ± 0.8                    | 1.5 ± 0.1           |

表中數值並非完全 100%，因為並非所有細胞型式均加以計數；只有顆粒球及紅血球系列才列於表內。狗 1—5 被分類為紅血球性白血病；狗 6—20 被列為髓原性白血病。

\*因自溶現象而無法作血球分類計數。

†三十五隻未加以處置的、臨床上正常的狗。

的時期，這時距其死亡的時間約 50 ~ 100 天。在此時，未成熟的白血球和芽母細胞 (blast) 在周邊血液被發現了，淋巴球也減少了，而各種不正常的血球大量增加。有核紅血球在所有的白血病獵犬裡都可找到，尤其在 5 隻紅血球性白血症 (erythro-leukemia) 獵犬裡大量發現，包括嗜鹼性紅血球芽細胞 (basophilic erythroblast)。各種不成熟的血球隨著時間而出現更多，直到近死亡時，所有的動物都出現嚴重的貧血及血小板減少症。而白血球的增多並不顯著，只有 30% 的動物其白血球超過 15,000 / Cumm。

#### 四、組織病理：

骨髓詳細的結果請見表 1。此 15 隻髓原性白血病 (myelogenous leukemia) 有顯著的顆粒球增生，而骨髓內脂肪、巨核細胞 (megakaryocytic cell)、紅血球 (erythrocytic cell) 顯著減少；造成 M : E 比率的變動 (2.6 : 1 ~ 61.5 : 1)。相反的，另 5 隻紅血球性白血病 (erythroleukemia) 則紅血球系列大量增生，脂肪與造血血小板細胞也減少，造成 M : E 比率約 0.2 : 1 ~ 1 : 1；此兩型白血病都

使未成熟細胞增加，而各大的程度都有點異動。白血病的骨髓具有較多細胞碎片，噬細胞能力以及繫細胞，他們使正常的造血能力受到損傷，而且也使血管竇破壞，同時肝、脾、淋巴腺也受到不同程度的侵襲。

#### 五、討論

這個實驗證實了連續用放射線照射是可以使動物發生白血病的機會增高；在這種照射下，有四種異常出現：敗血症、再生不能性貧血、白血病、非白血病性腫瘤；這種病與的出現與曝露的時間與數量有關，最先



現的是敗血病，其次是再生不能性貧血，接著是白血病，最後才是非白血性腫瘤以及變性性疾。此實驗顯示在2000 R的累積劑量時，具有突變成白血病的潛能而發生白血病的20隻獵犬裡，每隻都經過至少4000 R的照射累積。至於為何在各種不同曝露劑量下有不同的反應？我們可細心的觀察，在17 R的組群裡，大多死於顆粒球減少造成的敗血病，少數倖存者再死於其他原因；可能是此組的曝露劑量太強，使身體的防衛系統不足而造成死亡，在較低的曝露劑量裡，則有較多的動物有進入「適應環境」的機會，因為曝露劑量的累積愈慢，身體愈有機會產生防衛機構，這也就是在5 R的組群裡只有少數死於再生不能性貧血（aplastic anemia）的理由。而且，與別組不同的是在2000 R的累積之時，其紅血球並沒有減少，大部份的動物都能生存而進入適應期，有趣的是，5個紅血球性白血病（erythroleukemia）都是發生在這一組群裡。

在剛才所討論的周邊血液相裡，明白地可分四期：

- 1 第一期：白血球、血小板減少。
- 2 第二期：2000 R以後，有一段部份恢復及適應的時候。
- 3 第三期：白血病前期，此時血小板變動很厲害。
- 4 第四期：完全白血病期。

最值得注意的是第二期，此時期可能已種下白血病形成的暗因，在這時期白血球與血小板恢復到約正常值的一半，此時在骨髓裡可發現一群群抗放射線的已定幹細胞群（radio-resistant committed stem cell populations），表示其已在

恢復，另一種適應的可能性是經由“granulopoietin”的影響，而使血球數增加，不管如何，這最先出現的適應反應的增生現象或許就是最早白血病的徵兆，具體地說，也就是身體為了要彌補在第一期喪失的細胞，而出現增殖適應的現象，達到某一個臨界點（critical point）後，這種增生現象突然失去控制，而逐漸地出現血癌現象；實驗證明，過了這個階段以後，白血病開始出現確實的證據，以至於達到白血病的發作。另一方面，詳細觀察骨髓的變化；這時期增加的主要細胞為幹細胞（stem cell），與白血病的癌細胞相近。接著第三期的變化，白血球與血小板的上下浮動，與人類的慢性骨髓性白血病類似。

這個實驗之所以有意義是其與人類白血病有許多地方雷同，狗與人的白血病同樣有潛伏期，前者為三年，後者為七年，但依照壽命比例而算，二者差不多。在實驗的第四期，終末的骨髓細胞性白血病（myelocytic leukemia）的發作與人類的AML或是CML的芽母細胞危象“blast crisis”相似；臨床上，二者皆有噁心、逐漸衰弱、體重減輕、嚴重貧血、血小板減少，點狀和塊狀瘀血、脾大、輕微肝腫大、淋巴病變。周圍血液與骨髓內的發現也大致相同。

因為目前C型病毒致癌說相當受重視，所以在實驗時曾致力找C型病毒，但一直沒有找到，可能在犬身上的病毒相當局限也說不定，甚且假如這些病毒已結合入宿主細胞的染色體內時，則無法找到病毒微粒。

## 六、後記

在這個實驗裡，我們可以較具體地了解放射線在白血病誘因說法上的地位；放射線的確是可以增加其發病的比例，在本文內，可以觀察到隨著照射劑量的積聚，骨髓與周圍血液的變化，或許可做為在臨床上預防與早期診斷的參考。但這不是說放射線可完全說明白白血病形成的原因，只是它是個很值得重視的誘因而已。



一、前言：

爲了要鑑別急性骨髓性白血病 (AML) 的嗜中性白血球，近年來對於顆粒形成的研究愈來愈盛，Dorothy et al 併用電子顯微鏡及過氧化酶細胞化學 (peroxidase cytochemistry) 等二項技術，在病理上，有了兩個重要的發現：

(1) AML 的前髓細胞內有很濃的過氧化酶積聚在 Auer 桿狀體 (Auer body) 內。

(2) 在一些成熟多形核白血球 (PMN) 中，找到被單一層膜所包圍的 Auer 氏桿狀體 (Auer body)。

除此之外，尚發現

(3) 兩群不同的 PMN 共同存在著

①較少的一群 (< 5%) 是正常的，含有過氧化酶積聚在內的嗜天青顆粒 (azurophilic granule) 及沒有過氧化酶的特異顆粒。

②較多的一群，是異常的，只含嗜天青顆粒。

(4) AML 復發時出現了 Naegeli 所稱的“白血病性血像間斷” (“hiatus leukemicus”)。亦即只有白血病芽細胞 (leukemic blast) 和少部分正常 PMN 等兩種細胞，而沒有中間型細胞。

由以上的發現可知 AML 的細胞分化或是異常，而且很可能的，若發現病人血液中有正常與異常 PMN 共同存在著，則應該可以診斷爲白血病。

# 第三部份

# 白血病細胞超顯微

## 壹 • 急性骨髓性

雖然 10%~15% 的急性骨髓性白血病 (AML) 患者的骨髓芽細胞及前髓細胞有 Auer 氏桿狀體 (Auer body)，但成熟的多形核白血球卻很少發現此，而且至今也一直沒有人去研究這種現象是否有其意義在。起初以爲 Auer 氏桿狀體 (Auer body) 所以會存在於成熟多形核白血球上，或許是因爲正常的成熟多形核白血球吞噬了 Auer 氏桿狀體 (Auer Body)，但也有可能是由於白血病的細胞呈現了某種有意義的成熟。

## 二、個案探討：

一位女秘書由於臀部有刺痛的病原性腸桿菌屬膿腫 (Bacteroides abscess) 而於西元一九七二年三月廿一日入院。其白血球數量是每公升  $10.6 \times 10^9$ ，而且 Wright 染色塗抹片中可以看到有 28% 骨髓芽細胞，14% 前髓細胞，11% 骨髓細胞，1% 過渡骨髓細胞 (metamyelocyte)，19% 多形核白血球，24% 淋巴球，以及 3% 單核細胞。除此之外，很多骨髓芽細胞及



王建智  
秦茂昌

# 構造異常的探討

## 白血病 — 顆粒形成的異常

髓細胞含有長而窄的嗜天青顆粒，但是在多形核白血球成熟的晚期却看不到這種顆粒。白血球鹼性磷酸鹽酶 (leukocyte alkaline phosphatase) 顯得相當低，只有 11 個細胞含有反應產物 (正常範圍：40 ~ 80)。沒有散在性血管內凝集的臨床表徵。血紅素每公升 6.7 公克。血小板每公升  $39 \times 10^9$ 。抽吸骨髓顯示出一系列顆粒球的置換 (10% ~ 15% 骨髓芽細胞及 25% ~ 30% 前髓細胞)，其中大約 10% 含有 Auer 氏桿狀體 (Auer body)

。(圖 1A)。這些嗜天青顆粒亦在骨髓中任何成熟階段的顆粒球中被發現 (包括骨髓細胞，帶狀細胞，多形核白血球亦含有此種顆粒)。仔細觀察周邊血液塗抹片，可以發覺在多形核白血球內並沒有典型的 Auer 氏桿狀體 (Auer body)，卻含有 liac 染色的桿狀東西，用相差顯微鏡可以很容易地看出這些構造，因此這病人的診斷是急性骨髓性白血病。而骨髓及血液再經由電子顯微鏡及過氧化酶細胞化學來觀察其更細微的構造。

經服用阿拉伯糖腺嘌呤 (cytosine arabinoside) 及 6-thioguanine，十三個月後病人得到完全的恢復，其中在一九七二年六月、七月、八月採用強化治療。但這病人在一九七三年四月，七月，十月及一九七四年一月，二月卻又復發而只呈現部份恢復。由骨髓及周邊血液的觀察中，早期骨髓芽細胞持續地含有 Auer 桿狀體直至一九七四年三月才告消失，而後不再出現。在一九七三年十月及一九七四年二月，由於骨髓塗抹片中有骨髓芽細胞，一些前髓細胞，多形核白血球之存在卻沒有任何中間型細胞，所以可以確定的是這病人是 "白血病性血像間斷" ("hiatus leukemicus")，同樣的這抹片的組織亦經由電子顯微鏡觀察過。自此以後，就沒有再用電子顯微鏡觀察其他的取樣。

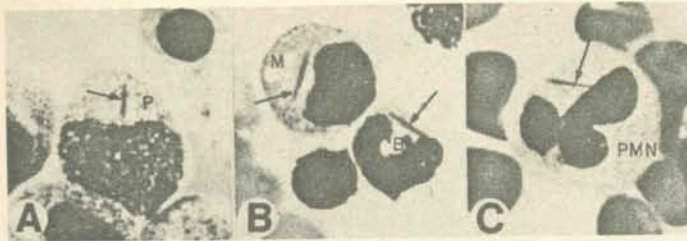
經過全身輻射及使用 cytoxan 後，於一九七四年四月自其 HLA 相配的 (HLA-matched) 兄弟成功地移植了骨髓，使得這病人回復至正常的血液參數 (parameter) 而且很明顯地白血病是治癒了。一直到一九七四年六月因感染散在性疱疹病毒 (herpesvirus) 而於七月四日死亡以前，這病人一直過得相當好。

### 三、結果：

#### A. 電子顯微鏡研究一

以前的研究已經指出 Auer 氏桿狀體 (Auer rods) 是大的，有膜包住的細胞器官 (organelles)，





圖一 治療前採取之 AML 的骨髓和血液，經 Wright 氏染色法後之光學顯微鏡像。巨大、長形的嗜天青 Auer 氏桿狀點（箭頭所指者）可在（1A）很多芽細胞及前髓細胞（P），（1B）骨髓細胞（M）、過渡骨髓細胞、和帶狀細胞（Band-form cells）（B）；以及（1C）成熟 PMN 中看到。A 和 B，X1230；C，X1600。

其內含有晶性基質。由於過氧化酶的沈積，在電子顯微鏡下這些構造顯得較濃，而且是在前髓細胞（即成熟的早期階段）所形成的。為了使讀者能了解其形成的偏差：在此先簡單地敘述正常嗜天青顆粒形成的路徑。

（RER → 高爾基氏體經由液泡 → 嗜天青顆粒）。（圖 2）

\*RER：粗糙面內質網（rough endoplasmic reticulum）之簡寫。

### B. 治療前骨髓及血液之觀察一

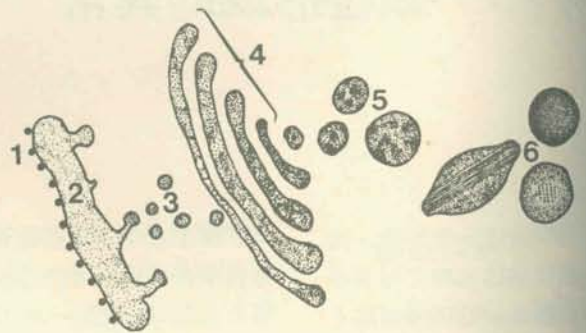
在這病人的異常前髓細胞內，可以見到很明顯的酵素濃縮及顆粒形成的異常，有下列：

(1) 高爾基氏體內有較小濃度的過氧化酶。（圖 3 及 4）

(2) 很多小液泡卻具有高能力的過氧化酶。這些液泡很可能是臨界的液泡，其來源可能來自二，或是自 RER 離開，經過高爾基氏體之池（cisternae），然後積聚成大的 Auer 氏桿狀體（Auer rods）或是來自高爾基氏體液泡而後再行濃縮（看圖 2，步驟 5）。

(3) 有一些嗜天青顆粒在濃縮及積聚過程中受到干擾，而導致異常大而長的顆粒即 Auer 氏桿狀體（Auer rods）（圖 4(C)）（內有晶性核）。

在成熟的多形核白血球內，有兩群不同的細胞：(a) 較小的一群成熟多形核白血球（< 5%）是正常的，亦即含有過氧化酶積聚在內的嗜天青顆粒及沒有過氧化酶的特異顆粒（圖 5）；(b) 另外一群是不正常的，即只含有嗜天青顆粒，而缺少特異顆粒。由此發現，可以猜測，細胞質的成熟在前髓細胞的階段之後已經停止，而且同時也可以說明白白血球鹼性磷酸鹽酶之活性所以降低的原因。有一些異常



圖二 正常嗜中性前髓細胞內嗜天青顆粒生成之假設步驟的圖解。過氧化酶的反應產物已被人觀察到在 RER、高爾基氏體池（Golgi cisternae）、和嗜天青顆粒中有增加濃度之像，顯示這酵素的分泌和濃縮路徑大致上與胰臟及其他細胞型式中分泌性蛋白者一致。這些步驟包含下列六點：(1) 結合型核糖體上的合成，(2) RER 池內的分離（segregation），(3) 小泡的由 RER 上的過渡基質（transitional elements）脫離（pinch off）以及它們的經過傳遞性小泡（junctional vesicles）轉送到高爾基氏複合體，(4) 酵素在高爾基氏體池內的包裝（packing）與濃縮（concentration），以及高爾基氏體衍生的小泡（Golgi-derived vesicles）的形成，(5) 較小小泡的聚合成大的、未成熟的嗜天青顆粒，以及 (6) 凝縮（condensation）以造成較同一大小與形狀的嗜天青顆粒。嗜天青顆粒以兩個主要形式出現：大部份是球形的，具有緻密的、均勻的基質；其他的則為橢圓形，具有結晶物質。圓形顆粒外觀而具有中央周期性（periodicity）的，一般認為是代表著橢圓形顆粒被垂直於結晶軸而切開的樣子（右下角）。

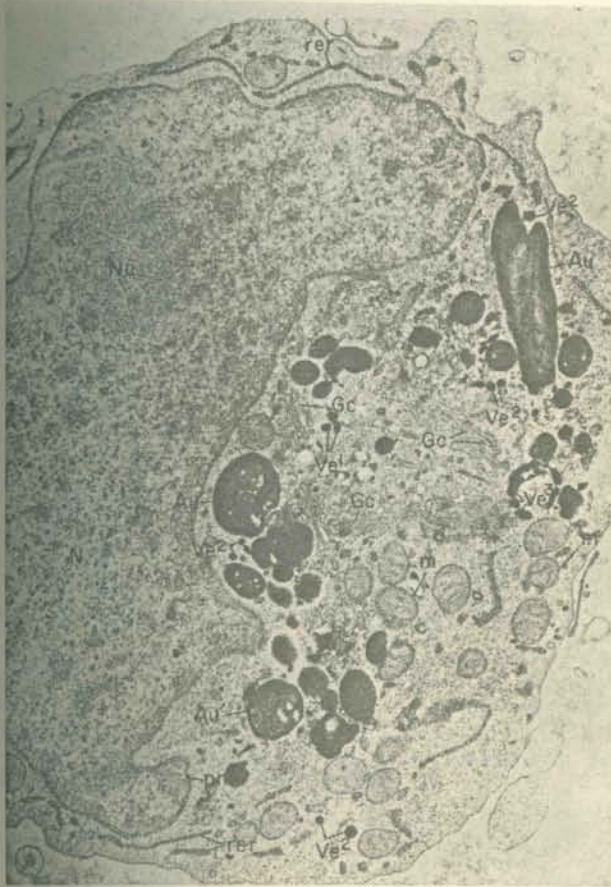
的多形核白血球亦含有 Auer 氏桿狀體（Auer rods）（圖 6A 和 6B）。這些對過氧化酶呈陽性反應的構造是由單一單位的膜所包圍，而且並沒有被包含在吞噬液泡裡面。

### C. 恢復期及復發期時骨髓及血液的觀察

經過兩種化學療法，用電子顯微鏡及過氧化酶細胞化學來觀察骨髓及血液，並沒發現有任何異常。所以循環的多形核白血球皆含有過氧化酶聚在內的嗜天青顆粒及沒有過氧化酶的特異性顆粒，就如圖 6。

一九七三年十月及一九七四年二月，由骨髓抹片證實了病人是“白血病性血像間斷”，經由電子顯微鏡下可以找到很多骨髓芽細胞及一些前髓細胞含有 Auer 氏桿狀體（Auer rods）（就如圖 3 及圖 4 所示的細胞），但是卻有一些多形核白血球是正常的（即圖 5 所示的細胞）。





圖三 一個含有Auer氏桿狀體的異常前髓細胞的電子顯微鏡像，得自最初的骨髓標本，並染色以顯出過氧化酶。這細胞具有一個巨大而未成熟的細胞核(N)，其中含有分散的染色質(chromatin)和一個核仁(Nu)。與正常前髓細胞相較，細胞質最驚人的異常之處，就是顆粒大小、形狀、和基質形態上顯著的異質性。Auer氏桿狀體在過氧化酶染色上反應很強，而且依照切面可表現成長形(Au)或圓形(Au')。Auer氏桿狀體以外，位於高爾基氏區內(Ve<sup>1</sup>)或周邊細胞質內(Ve<sup>2</sup>)的許許多多小泡(vesicles)也含有緻密的反應產物。Auer氏桿狀體似乎是由具活性小泡的聚集和融合所造成，就像那些標以Ve<sup>2</sup>的小泡。像那些標以Ve<sup>3</sup>的影像可能代表著許多較小的、過氧化酶反應陽性的小泡的融合產物。在RER(rer)和胞核周圍池(perinuclear cisternae)(pn)中，可見到過氧化酶反應非常微弱的反應產物。吾人可注意到，高爾基氏體池(Go)中只有少許甚或無反應產物。m，粒線體。本組織在1.5% glutaraldehyde 中於40°C下固定10分鐘，在3,3'-diaminobenzidine 和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中於pH7.6 下反應1小時，並在OsO<sub>4</sub> 中作反應後固定(postfixation)。×15,650。

#### 四、討論：

##### A、前髓細胞內 Auer 氏桿狀體 (Auer rods) 的形成 —

這些發現證實而且衍伸了以前有關Auer氏桿狀體(Auer rods)的形態，出現時間，所含過氧化酶的解說，而且另外發掘了一條不是一般顆粒形成的路徑，其中過氧化酶亦被積聚而且亦被儲存起來。對正常的前

髓細胞而言，其酵素是在嗜中性白血球開始分化時才合成的，在RER池內亦可以看到，RER池內所含之量與高爾基氏體池內所含之量比較起來顯得相當少，而且這些酵素總是沿著高爾基氏體的凹側而沈積的。但是，在這些含有Auer氏桿狀體(Auer rods)的白血球細胞的高爾基氏體內卻只含了較淡的酵素，而且酵素大都是沈積在很多的小液泡內。在目前

的情況之下，要去了解這些含有過氧化酶的小液泡是來自何處是不太容易的，他們或許只是經過高爾基氏體池的RER衍生物，也有可能是高爾基氏體濃縮得不好，而致大部份的濃縮只發生在自高爾基氏分開的那些小液泡(圖2，步驟4)。

白血病細胞在形成顆粒的積聚與濃縮上亦是異常的，因為這些顆粒內容及大小都是與正常的不同。雖然對於把酵素濃縮入嗜天青顆粒的因素尚未了解，但是Palade曾經說明了胰臟外分泌細胞酶原顆粒(zymogen granule of pancreatic exocrine cell)內之酵素濃縮的情形，這兩件事或許是相似的。Palade亦提出說明胰臟外分泌細胞內酵素的沈積並非由於負責濃縮的液泡的膜離子幫浦所致，而是含硫酸之聚合陰離子sulfated polyanion所產生的滲透效果。理論上，這個聚合陰離子polyanion與代表陽離子的分泌、蛋白質作用，而減少負責濃縮之液泡內的滲透作用，使得水分滲出外面，導致濃縮現象的形成。

有其他的學者亦證明除了過氧化酶外，Auer氏桿狀體(Auer rods)尚含有酸性磷酸酶及脂化酶？B、多形核白血球內的Auer氏桿狀體(Auer rods) —

就像以前所說的，成熟細胞內的Auer氏桿狀體(Auer rods)可能代表著這些桿狀體是被成熟多形核白血球所吞噬，或者是由於白血病細胞核成熟而來。但由於這些桿狀體只由一層膜所包圍，而非由液泡本身及顆粒本身等兩層膜所包圍，所以第一種可能性較小。因此成熟多形核白血球內的Auer氏桿狀體(Auer rod)，事實上應該是由白血病細胞核發育而來。



C、“白血病性血像間斷”一

Naegeli 指出如果是只出現骨髓芽細胞和成熟顆粒球，卻很少或沒有中間型細胞，此時稱為“白血病性血像間斷”。Bessis 對 Naegeli 之發現作了一番解釋：可能是由於白血病細胞無法成熟或是自一些仍然是正常的顆粒球前身所演變而來的顆粒球。關於這點，經由此次對精微構造的觀察，證明 Bessis 的解釋是對的，因為發現到的多形核白血球都是正常的。



圖五 採自最初骨髓標本的正常成熟 PMN，施以過氧化酶反應。細胞質充滿著亮與暗的顆粒。過氧化酶的嗜嗜天青顆粒 ( ag ) 使它們顯得在電子顯微鏡下不透明 ( electron opaque ) 且非常緻密。恰與嗜鹼性的特異性顆粒 ( sg ) 相反 ( 後者呈蒼白色 )。許多肝醣的小  $\beta$  粒子 (  $\beta$  ) 也在圖中，此外還有胞核三個葉 ( lobes ) (  $N^1 - N^3$  )，以及一個小小的高爾基氏複合體 ( Gc )。× 16,500。插圖：特異性顆粒 ( sg ) 和嗜天青顆粒 ( ag ) 在更高倍下可看得更清楚。× 43,500。

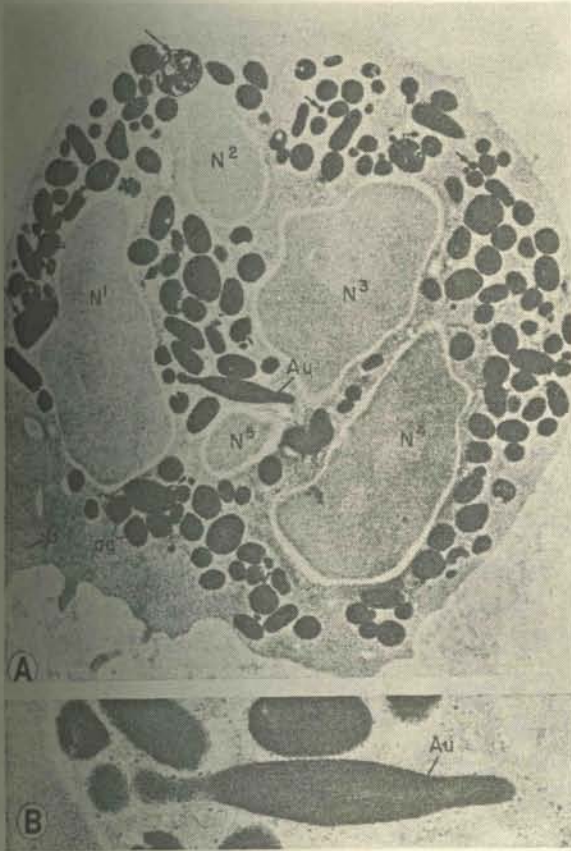


圖四 A，另一異常前髓細胞的高爾基區，施以過氧化酶反應。因為組織製備的不同，RER ( rer ) 和高爾基氏體池 ( Gc ) 內的反應產物在這裏要比圖三中看得清楚。圖三中的細胞是整個以醋酸鉍 ( uranyl acetate ) 染色的，如此易於使這個反應產物模糊；而在圖四中這個過程已被省略了。其他方面來說，這兩個標本都用相同方法製備。這張顯微照片還顯示一個異常之處：高爾基氏體池 ( Gc ) 的反應較 RER、小泡 ( Ve )、和形成中的顆粒 ( g ) 者小。在正常前髓細胞中，高爾基氏體池含有中度緻密的反應產物，通常較 RER 多。× 12,200。  
B，另一異常前髓細胞的一部分細胞質，顯示許多小泡 ( Ve ) 的聚集，這些小泡集合成大顆粒 ( g ) 和 Auer 氏桿狀體。× 26,100。C，具結晶中心的 Auer 氏桿狀體。× 87,000。這一型式的製備物中，這些桿狀體的周期性 ( periodicity ) 很難看出，因為反應產物部分地遮蔽了它們的微細構造。本標本並不企圖作精確的測量。pn，胞核周圍池 ( perinuclear cisternae )。

D、正常與異常多形核白血球的同時存在一

異常多形核白血球被認為是因其在到達前髓細胞階段之後，細胞質停止發育，但細胞核却繼續發育，也就是 Bessis 所謂的“反常的成熟”(“maturation anarchy”)。根據形態上的區分，有 5% 是正常的嗜中性白血球前身及成熟的多形核白血球；Greenberg et al 及 Metcalf et al 曾經在急性骨髓性白血病患者之骨髓上發覺正常的與白血病的細胞皆有形成聚落的能力，他們的觀察與這次的發現是相符合的。Metcalf et al 從已經恢復的患者骨髓細胞培養上發現白血病細胞漸被正常顆粒球所置換。而這，亦與這位病人相符合。





圖六 開始起病前採得的成熟 PMN，施以過氧化酶反應。A 胞核顯出了成熟細胞的表徵——具有非常緻密的染色質的五個葉 (lobes) (N<sup>1</sup> - N<sup>5</sup>) 可為吾人看見。這個核不似圖五中的核質染得那麼深，因為在染色上省略了醴體鈉 (uranyl acetate) 的步驟。同時，細胞質中含有許多正常成熟 IMN 所具的典型肝糖小 β 粒子 (β)。然而，與正常 PMN 相反的，這個細胞不含過氧化酶陰性 (或特異性) 顆粒，而這種顆粒通常佔有全部顆粒數目的 67% (比較圖七)。此外，嗜天青顆粒 (ag) 的大小和形狀也有相當的變化：一部份非常地小 (小箭頭所指)，而其他的大得不正常 (長箭頭所指)。一個明顯的長形 Auer 氏桿狀體 (Au) 也出現在圖中。× 16,500。B. A 圖的放大。這個 Auer 氏桿狀體 (Au) 被包在一單層膜中。× 42,500。

## 貳 • 慢性骨髓性白血病

### — 代謝作用與去顆粒作用的異常

#### 一、前言：

慢性顆粒球性白血病 (CGL) 的顆粒球到底具有什麼功能，至今尚是一個很熱門的話題，或許是由病人的個人差異而有許多不相同的異常出現。Elisabeth Cramer 有一篇報告研究了十四位未經治療的 CGL，根據其會吞噬的顆粒球的功能而可分為下列三組：

為了要徹底了解這次所提出的個案，另外收集了 5 個其他急性骨髓性白血病的病人，顯示出異常的成熟多形核白血球與正常的成熟多形核白血球相混合的情形有下列：(1) 多形核白血球只含有嗜天青顆粒而沒前述特異顆粒。(2) 多形核白血球只含有前述特異顆粒而沒有嗜天青顆粒。(3) 兩者皆含有，但沒有過氧化酶之特徵。

Ullyot 及 Bainton 在慢性骨髓性白血病患者身上亦曾發現類近的這種異常多形核白血球。這些異常多形核白血球或可解釋採用一般組織化學方法所顯示的偶而的酵素缺乏。

Catousky 等人研究了二十八個個案，其中十二個病人 (43%) 的多形核白血球缺少過氧化酶。根據這次的發現，這些欠缺過氧化酶的多形核白血球 (符合前述的(2)(3)) 可能是缺乏嗜天青顆粒或只是缺乏過氧化酶而已。

第一組：四位病人的吞噬性顆粒球 (phagocytosing granulocyte) 在有關吞噬作用剛開始的代謝都是正常的，這些作用包括：攝食外界質粒，NBT (nitroblue tetrazolium) 刺激後量之減少情形，對氰化物不敏感 (cyanide-insensitive) 的氧氣消耗量，O<sub>2</sub> 刺激後之產量，H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 之產量等等。同時他們還具備正常的碘化作用，也含有正常的髓性過氧酶 (myeloperoxidase) (MPO)。



第二組：另外有六位病人，剛開始的代謝作用及MPO的含量是正常的，但是碘化作用卻呈明顯的減少；其中有一位病人觀察其超微構造更顯示出其沒有去顆粒的作用（degranulation defect），即他的吞噬性顆粒球並不能把顆粒內的MPO釋出而且在吞噬體（phagosome）內並沒有MPO的沈積。

第三組：剩下的四位病人則完全缺少以上所說的代謝作用等等。

以前曾經有人指出，CGL具有一些異常的性質，例如鹼性磷酸酶（alkaline phosphatase）的活性較低，以及還有一些功能的缺陷，包括：顆粒球附著玻璃表面能力的降低，移行（migrating）能力的不完整，攝食能力，殺菌力的減弱，以及攝食後或攝食當時刺激一些代謝作用卻沒有正常的反應出現等等。這些代謝作用與形態上的改變同時發生，二者皆與顆粒球的殺菌作用有關。這些代謝作用的整個一連串過程可歸納如下：(1)顆粒球與外界的粒子（particle）接觸——隨著對氧化物不敏感的氧氣消耗量增加及六碳醇單磷酸活性的改變後， $O_2$ 及 $H_2O_2$ 也接著產生。

(2)攝食期——吞噬性顆粒球的細胞質分泌殺菌物質，以殺死被併入吞噬液泡（phagocytic vacuole）內的微生物。此時原來存在嗜天青（azurophlic）顆粒球內的MPO會與 $H_2O_2$ ，鹵素結合而產生殺菌作用。這個殺菌系統（MPO- $H_2O_2$ -鹵素）可由觀察與白血球之殺菌有關的

碘化作用而證實之。

## 二、方法：

有關顆粒球功能測驗，Elisabeth Cramer et al 做了下列這些：

(1)利用乳液刺激後觀察組織化學的反應，而且根據Windhorst et al 之方法計算NBT減少的情形。

(2)據Baehner和Nathan，用酵散（zymosan）（由酵母，尤其是酒釀母的細胞壁或整個細胞而來之一種脂肪、多糖、蛋白質及灰質之不同濃度混合物）刺激後NBT減少的情形。

(3)觀察在休息狀態或酵散刺激過的顆粒球，對氧化物不敏感的氧氣消

耗量有多少。

(4)用偏光術可以觀察對氧化物不敏感的 $H_2O_2$ 產量。

(5)酵散刺激過的 $O_2^-$ 產量。

(6)在碘的濃度是每公升20或100微莫耳的情況下做碘化作用試驗。

(7)利用標有 $^{14}C$ 的Klebsiella觀察攝食速度。（表2）

以上這些功能測驗，除了測Klebsiella之攝食速度外，其餘皆是以每個成熟顆粒球做為計算單位，所以培養基內的不成熟顆粒球也就被忽略掉。（表1）

(8)利用超微構造觀察沒有去顆粒作用的病人，其MPO的組織化學如何，並且比較對照組。

表二 顆粒球攝食的Klebsiella受試者

| 病人*                                  | 培育時間(分鐘)  |           |           |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
|                                      | 5         | 10        | 15        |
| 3                                    | 4.1       | 8.2       | 11.7      |
| 4                                    | 3.1       | 6.6       | 9.1       |
| 5                                    | 6.0       | 15.5†     | 25.2†     |
| 6                                    | 3.3       | 7.0       | 11.5      |
| 10                                   | 9.1†      | 17.9†     | 23.6†     |
| 14                                   | 1.2       | 2.3†      | 5.2†      |
| 控制組<br>(25 subjects,<br>mean ± 1 SD) | 3.7 ± 1.5 | 7.5 ± 2.5 | 9.9 ± 2.0 |

所示數字為每一顆粒球所含Klebsiella數目。

\*病人3、4被編於I組，病人5、6、10被編於II組，而病人14在III組  
†統計學上有意義為在5%顯著限値（significance limit）內增或減其數目。



### 三、結果：

#### A、顆粒球功能測驗：

I 組皆在對照組範圍內。

II 及 III 組對於醇散刺激後的碘化作用呈現異常。其中 II 組乳液的攝食，NBT 的減少，NBT 刺激後量的減少，氧氣消耗量等皆在對照組範圍內，即使攝食速度及  $H_2O_2$ ， $O_2^-$  之產量雖有少數病人稍呈異常，但大多

數都是正常的。III 組除了碘化作用異常外，能攝食乳液的成熟白血球較少，雖然有些可正常地攝食乳液，但其具有藍黑沈澱的白血球並不多。氧氣消耗量， $O_2^-$  產量， $H_2O_2$  產量，攝食速度皆不正常。

這三組病人，皆含有正常或稍增加的 MPO。

II 組的病人除碘化異常外，其他皆正常，這代表碘化作用本身的過程中有一步驟是異常的。攝食過外界質

粒的白血球是如何把碘轉化成參與 TCA 的形式，Pincus 和 Klebanoff, Root, Stossel 曾以下列的機轉解釋之：①白血球的顆粒經黏合，破裂而後釋出吞噬液泡內的 MPO。②此時白血球亦產生  $H_2O_2$ 。③ MPO 與  $H_2O_2$  與碘發生作用使得被吞噬進來的質粒產生碘化作用及少許白血球的產物。另有一種可能，MPO 與  $H_2O_2$  都被分泌至細胞外，而反應發生在含有碘的細胞膜或其它的蛋白質接受器。所以在吞噬體內或白血球細胞外的碘化作用須具備下列條件：

(1) 在白血球內的顆粒須含有活性的 MPO。

(2) 能夠正常地把 MPO 釋放至吞噬體內或白血球細胞外。

(3) 能夠產生足夠  $H_2O_2$  而且  $H_2O_2$  亦可滲透至吞噬體內或細胞外。

(4) 要有足夠量的碘。

(5) 細胞膜具有能與碘作用的接受器。

這過程內的任何一個步驟發生困難皆可導致碘化異常。

關於(1)由於 14 位病人不論有無碘化異常，皆含有足夠量的 MPO，所以這些 MPO 都是具活性的。

關於(3)，在碘化異常的白血球細胞外，可測量到正常量的  $H_2O_2$ ，由於一般總以為  $H_2O_2$  是由白血球細胞膜所製造，如此情況下， $H_2O_2$  滲透至吞噬體是否有發生困難，乃是不可隨便加以否定掉的。但是後來 Briggs

et al 却又提出  $H_2O_2$  的生產地是吞噬體膜，如此則細胞外有足夠的  $H_2O_2$ ，表示其滲透作用是正常的。

表一 顆粒球功能試驗結果

|   | Group I<br>(Patients<br>1-4) | Group II<br>(Patients<br>5-10) | Group III<br>(Patients<br>11-14) | Controls    |
|---|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------|
| Iodination<br>(nmole/ $10^7$ cells)                                     | (4)                          | (6)                            | (4)                              | (40)        |
| Per 10 min  | 3.28 ± 0.98                  | 0.86 ± 0.29                    | 0.72 ± 0.38                      | 2.72 ± 0.53 |
| Per 20 min  | 6.36 ± 1.76                  | 2.08 ± 0.60                    | 1.60 ± 0.81                      | 5.53 ± 1.07 |
| Histochemical test  | (4)                          | (6)                            | (4)                              | (30)        |
| Latex*  | 82 ± 9                       | 86 ± 10                        | 40 ± 9                           | 87 ± 7      |
| NBT†  | 80 ± 5                       | 78 ± 5                         | 28 ± 12                          | 76 ± 8      |
| Quantitative NBT-<br>stimulated reduction<br>(nmoles/ $10^6$ cells/min) | (4)                          | (6)                            | (4)                              | (33)        |
| 1.22 ± 0.07   | 1.30 ± 0.20                  | 0.29 ± 0.12                    | 1.61 ± 0.29                      |             |
| Cyanide-insensitive $O_2$<br>consumption (natom/ $10^6$ cells/min)      | (4)                          | (6)                            | (4)                              | (40)        |
| Resting   | 1.6 ± 0.4                    | 1.9 ± 0.4                      | 1.9 ± 0.4                        | 1.6 ± 0.7   |
| Stimulated  | 13.9 ± 0.9                   | 15.4 ± 1.8                     | 6.1 ± 1.8                        | 16.0 ± 2.5  |
| Cyanide-insensitive $H_2O_2$<br>production (nmoles/ $10^6$ cells/min)   | (2)                          | (3)                            | (1)                              | (25)        |
| 6.1   | 6.1 ± 0.3                    | 2.3                            | 6.2 ± 1.1                        |             |
| $O_2^-$ -stimulated production‡<br>(nmoles/ $10^6$ cells/min)           | (2)                          | (3)                            | (1)                              | (30)        |
| 6.4   | 8.6 ± 1.4                    | 1.8                            | 7.0 ± 1.3                        |             |
| MPO Activity§<br>(nmoles/ $10^6$ cells/min)                             | (4)                          | (6)                            | (4)                              | (40)        |
| 216 ± 73  | 315 ± 152                    | 346 ± 160                      | 197 ± 34                         |             |
| Leukocytes differential count   | (4)                          | (6)                            | (4)                              | (60)        |
| Mature granulocytes   | 75 to 84                     | 75 to 96                       | 72 to 87                         | 80 to 90    |
| Immature granulocytes   | 10 to 20                     | 0 to 15                        | 9 to 22                          | 0           |

結果的表示是用平均值加減一個標準偏差或是把每個結果的範圍表示出。但組內所研究的病人數以括號表示之。

\* 成熟顆粒球攝食乳液質粒的百分比。

† 含有藍黑沈澱的成熟顆粒球的百分比。這百分比是由含有乳液的成熟顆粒球數所計算而得來的。

‡ 培養時間為 5 分，10 分，15 分。細胞色素 C 的減少隨培養時間而變。結果是用這三個培養時間的平均值來表示。

§ 其活性是在 460 毫微米 (每公分每毫莫耳是 8.6) 之情況下，Orthodiamisidine 的減少係數。

|| 白血球懸浮液的鑑別計量。

||| 計算這平均值顯示每個結果皆比對照組的平均值以 2% 的有意義限制內是有意義的減少。



表三 顆粒球均質的碘化作用

| 病人*                                 | 加入的 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (毫微莫耳) |            |             |             |
|-------------------------------------|--|------------|-------------|-------------|
|                                     | 11                                       | 22         | 44          | 110         |
| 1                                   | 1.06                                     | 2.31       | 3.63        | 4.53        |
| 4                                   | 1.20                                     | 2.34       | 4.20        | 6.76        |
| 5                                   | 1.35                                     | 2.62       | 4.41        | 6.92        |
| 6                                   | 0.91                                     | 1.60       | 2.08        | 3.32        |
| 14                                  | 1.41                                     | 2.74       | 5.12        | 7.25        |
| 對照組<br>(9 subjects,<br>mean ± 1 SD) | 0.92 ± 0.16                              | 1.6 ± 0.32 | 2.23 ± 0.39 | 3.49 ± 0.67 |

表中之數值為每10分，每10<sup>7</sup>個破碎細胞所發生碘化作用的毫微莫耳數。  
\*病人1和4屬於I組，病人5和6屬於II組，病人14屬於III組。

表四 MPO 陽性顆粒以及吞噬作用前後含有過氧化酶之吞噬體的計數表

| Granulocyte State                    | No. of MPO Granules per Equatorial Section of Mature Granulocytes |                     |          | Percentage of Phagosomes Containing Products of Peroxidase Activity |                     |          |
|--------------------------------------|---|---------------------|----------|---|---------------------|----------|
|                                      | Patient   | Concomitant Control | Controls | Patient   | Concomitant Control | Controls |
| Before ingestion                     | 75 ± 21   | 79 ± 19             | 80 ± 18  | —   | —                   | —        |
| 5 min after initiation of ingestion  | 59 ± 24   | 46 ± 20             | 47 ± 21  | 5   | 68                  | 71 ± 6   |
| 10 min after initiation of ingestion | 58 ± 21   | 32 ± 18             | 30 ± 16  | 10  | 79                  | 82 ± 8   |

表中每項結果均為由病人5及每一對照者所得到的成熟顆粒球的50張顯微照片內的粒子計數平均值±標準偏差。

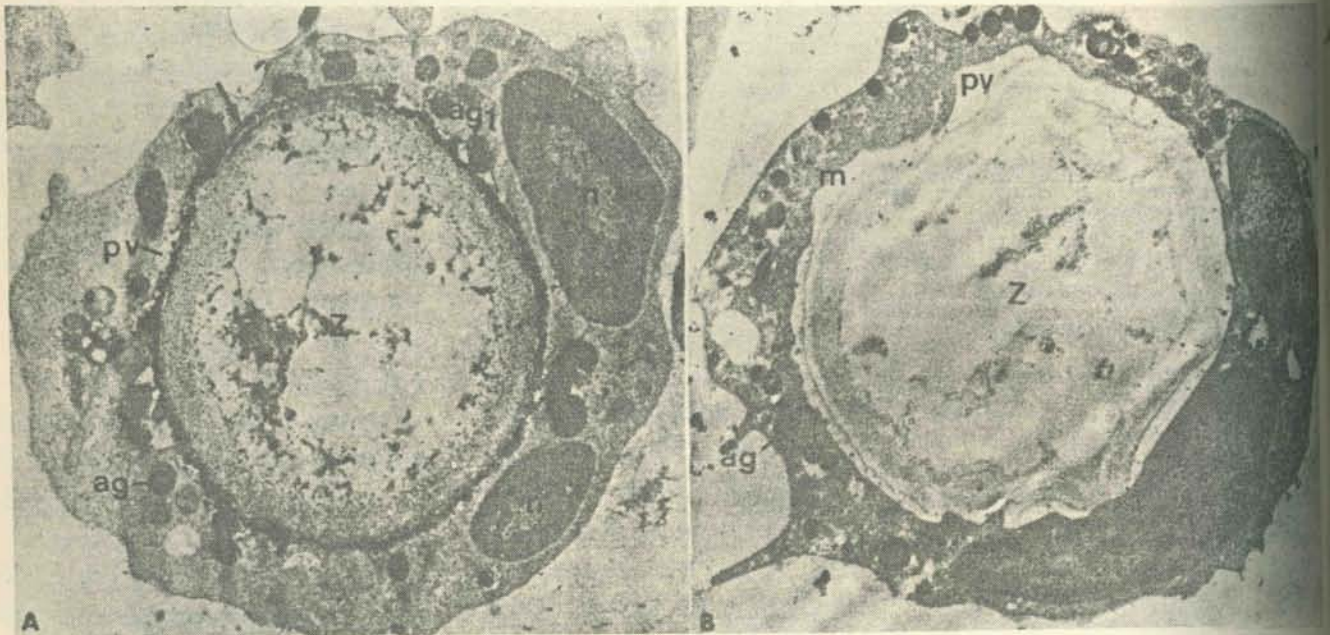
關於(4)，在增加碘的濃度後，除了碘化異常的病人不受影響外，其餘皆與對照組呈同樣的增加。

關於(5)，從表3可以知道，由於II組的兩位病人，其顆粒球的均質(granulocyte homogenate)具有正常碘化作用，因此(5)是成立的。

由以上的判斷，可以曉得碘化異常最有可能是因為顆粒內的MPO在吞噬作用時不能被輸送至吞噬體內或白血球細胞外，即沒有去顆粒作用。

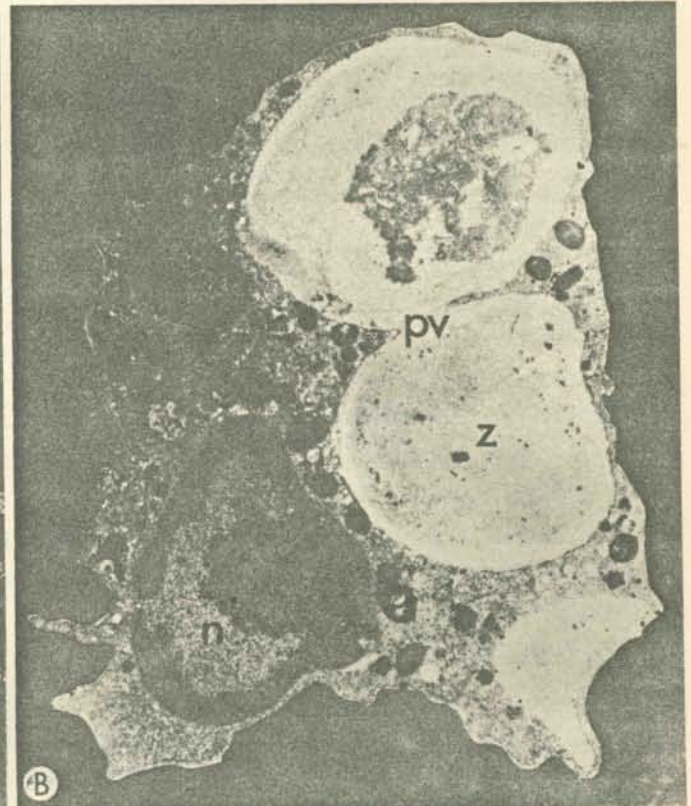
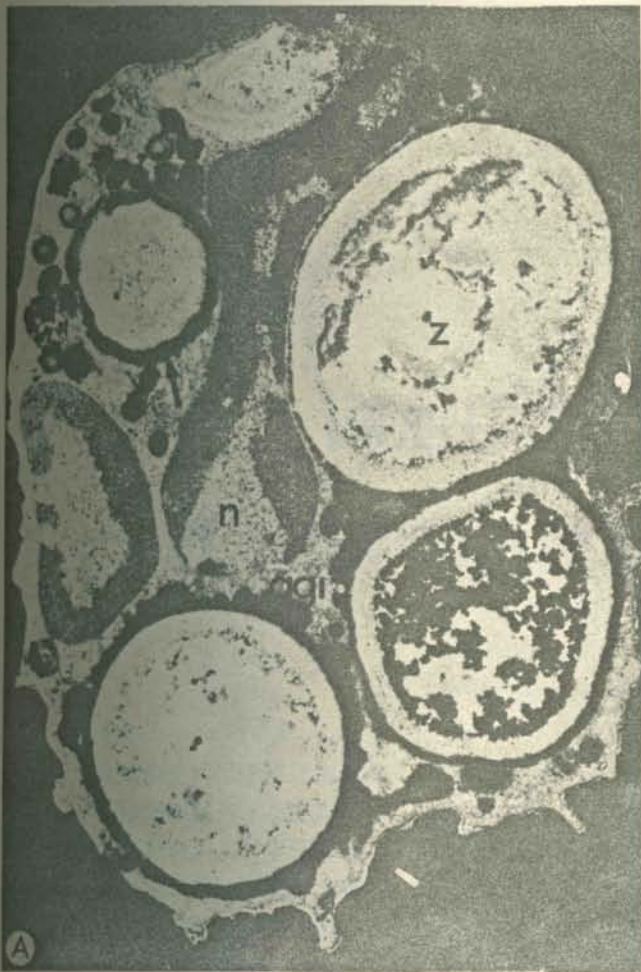
B、利用超微構造分析脫顆粒

在攝食酵散前，病人與對照組沒什麼不同。但經過5分後，每一對照組皆攝食了酵散，而在吞噬體內顯示出含有69%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(見表4及圖1A)；但病人的吞噬體卻只有5%(見圖1B)，其留在細胞質內



圖一 (A)由一受酵散(Z)作用5分鐘的標本得到的正常成熟顆粒球，並施以過氧化酶反應。吾人可見酵產物包在吞食了的粒子外(箭頭所指者)，或做為過氧化酶陽性(嗜天青)顆粒存在，這些顆粒不是在細胞質中(ag)，就是把它們的內含物釋放(ag<sub>1</sub>)到吞噬液泡(pv)內。n：細胞核。×25,000。(B)成熟顆粒球(來自病人5)，得自受酵散(Z)粒子作用5分鐘的標本，並施以過氧化酶反應。反應產物無法在吞噬液泡(pv)中見到，也不見包在吞食了的粒子外。嗜天青顆粒(ag)保持在細胞質內，且不見它們與吞噬液泡的膜(m)有融合現象。細胞質中充滿著與吞噬液泡有明顯距離的嗜天青顆粒。n：細胞核。×14,000。





圖二、(A) 經 15 分鐘的醇散(Z)刺激並且與過氧化酶反應的正常成熟顆粒球。在吞噬液泡內所攝食入的質粒四周可發現反應產物的沈積(箭頭所指)。大量嗜天青顆粒釋放過氧化酶陽性的內容物(ag<sub>1</sub>)進入吞噬溶小體。n: 核仁。  
 ×19500。(B) 經15分鐘的醇散(Z)刺激並且與過氧化酶反應的患者成熟顆粒球。在吞噬體內或攝食入質粒的四周並未發現反應產物。嗜天青顆粒仍然保留在細胞質內而不與吞噬液泡接合(PV)。n: 核仁。×18000

的MPO比對照組的還多。經過15分後，對照組含有79% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (見圖2A)，這些H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>不是在吞噬體內，就是緊緊包圍著欲破之醇散；但病人卻只含有10%，在吞噬體內或吞噬體膜內與醇散膜外之間沒有MPO之沈澱，也很少看到吞噬體膜與MPO之接觸，病人細胞質內MPO比對照組多很多。

#### 四、討論：

Elisabeth Cramer et al的這篇報告，有兩點是必須提出來討論的。

(1)這些觀察、研究用的顆粒球都是自未經治療的CGL取出的。

(2)如表1所示，在做顆粒球功能測驗時，培養的顆粒球是成熟的與不成熟的混在一起，而計算時都是只以成熟顆粒球為單位(Klebsiella的攝食速度除外)，所以涉及消耗氧氣的功能時，由於不成熟顆粒球的同時存在，所求出的數據常比事實為高。相對地，計算Klebsiella攝食速度時則比事實偏低(因攝食速度是以每個成熟或不成熟顆粒球而算)。這種偏差是不可隨便加以忽視的。至於乳液的吸收及NBT的減少是不會受到影響的。

最後，願以兩個重要的觀念來做為結語：

(1)每個病人的顆粒球其功能是不盡相同的，因此據其功能又可分出三個亞組：

第一組：完全在對照組範圍內。

第二組：只有碘化異常，很可能是因顆粒球內的顆粒對於MPO的釋出發生問題所致。

第三組：攝食功能不佳而且一些耗氧的代謝作用亦顯得不健全。

(2)去顆粒作用的不足(degranulation defect)是確實存在的，而且利用超微構造的分析是可以證實其確是存在的。



## 參 • 慢性淋巴性白血病

### —內質網相關構造之異常

[摘要]：從61位慢性淋巴性白血病(C.L.L.)患者和28位患者其他淋巴腫瘤者以及64位非癌症者，抽取周邊血液的淋巴球，作電子顯微觀察，發現13位C.L.L.患者具有三種與內質網相關的構造。這些構造有些是微纖維的(fibrillar)，晶狀體的(crystalline)或者是粒絲狀的(granulofilamentous)。除了晶狀體的在C.L.L.患者的淋巴球中佔80~90%以外，其他的構造是很少觀察到。在非癌症患者及其他

淋巴腫瘤患者的淋巴球中並無發現有這些構造的存在。由未曾接受治療的7位患者，在九年中各提供兩次以上的血液樣品(blood sample)，統計這些構造的出現率及持續性，顯示這些患者的淋巴球有生理性的缺陷，並且支持白血病性淋巴球(leukemic lymphocyte)的同體來源(clonal origin)假說。同時，這些構造與是否接受化學治療或淋巴球的計數(lymphocyte count)，並無可靠性關係。

在C.L.L.患者的淋巴球中與內質網相關的包涵體(inclusion body)，曾經被分為三種型式：1.球形的(globular) 2.晶狀體的(crystalline) 3.圓柱狀的(cylindrical)。

由於每次觀察都是從任一病人，任一血液樣品(blood sample)，並且僅描述一種的包涵體，所以無法推斷這些包涵物與疾病的關係。

以目前利用電子顯微鏡來做EM的回顧觀察，不僅發現有15%的C.L.L.患者，其白血病淋巴球具有兩種包涵體，同時報告約有8%的病人具有另一新形式的內質網相關構造(ER-associated structure)並且從EM的觀察可以了解包涵體與放射線，藥物及試劑等之關係，同時可以進一步明瞭這些包涵體的發生與疾病是否具有統計學上的意義。

#### 材料和方法

用EM來研究61位C.L.L.患者和28位患其他惡性淋巴腫瘤者，且以18位正常人及16位非惡性疾病作對照觀察。其中，六位白血病患者，在9年的研究期間，各提供2-7次血液樣本，一位在同一期間共7次樣本。

病歷



在這研究中，61位C.L.L.患者，有13位具有內質網相關構造（其中6位曾接受治療，其餘7位則否）。但是內質網相關構造不論在治療過或未曾治療過的患者身上均可發現。簡述4位患者病歷如下：

病人A：68歲，於1961年4月12日，作例行理學檢查，才發現C.L.L.。周邊血液白血球計數為 $21,000/\mu\text{l}$ ，其中51%為淋巴球。這病人一直在門診部門觀察，1971年止均未接受任何治療，在這期間，淋巴球的比數均在60%左右。從1968—1971年共作四次血液檢查，在其淋巴球內均有纖維狀物質（fibrillar matter）的出現。這病人於1971年4月16日逝去，經屍體解剖發現死因為急性肺水腫（acute pulmonary edema）及動脈硬化（arteriosclerosis）。

病人B：54歲，1960年8月2日因為dumping syndrome而入院，

W.B.C.： $30,000/\mu\text{l}$ ，含94%淋巴球。有全身性淋巴腺病變（lymphoadenopathy）以及肝腫大（肋緣下3 cm），診斷為C.L.L.。這病人至今仍在世而其淋巴球始終維持在85%—95%，並且從未接受抗白血症的治療。從1967—1976年，該病人一共提供6次血液樣本，檢查結果：纖維狀構造（fibrillar structure）及粒絲狀體（granulofilamentous body）可以在4%的淋巴球中發現。

病人C：68歲，於1967年有前列腺癌（prostatic ca.）的診斷，並且接受5年的diethylstilbestrol的治療；在1971年C.L.L.才被診斷，此後該病人接受Chlorambucil之治療。由血清的免疫電泳法（immunoelectrophoresis）結果：Ig G  $5.2\text{ mg/ml}$ （正常值8—14），IgA  $0.36\text{ mg/ml}$ （正常值1—3），IgM  $0.2\text{ mg/ml}$ （正常值0.9—1.7）。於1972年12月第一次用EM來觀察其血液樣本至1975年1月第二次血液樣本送來時，該病人已接受其他更進一步的治療如：Cytosan, Prednisone 以及放射線療法

（radiotherapy）。免疫球蛋白於1975年沒有測定。在兩次的血液樣本中晶狀體及粒絲狀體（granulofilamentous body）的出現率並無差異。這病人於1975年3月16日逝世，屍體解剖發現C.L.L.侵犯淋巴結、脾、肝以及其他器官，並且前列腺癌（prostatic ca.）。已經有局部轉移。

病人D：69歲，於1965年診斷為C.L.L.，以類固醇（steroid）及Chlorambucil來治療，於1973年7月9日入院主訴：虛弱有4星期之久。白血球： $240,000\text{ cell}/\mu\text{l}$ 中96%為淋巴球。該病人入院後接受Chlorambucil八星期的治療，於出院時白血球數為 $91,000\text{ cell}/\mu\text{l}$ 中87%為淋巴球。他逝世於1974年，沒有經過屍體解剖；僅有一次血液樣本，其淋巴球含有無定形物質（amorphous matter）於內質網內。

#### 淋巴球的淨化

抽取15 ml的周邊血液，放入消毒過且肝素化的試管中，則單核球（monocytes）及顆粒性白血球（granulocytes）會附著於玻璃表面，而存留其他血液細胞於浮液上。

電子顯微檢查



切片並以硝酸鈾 (uranyl nitrate) 及檸檬酸鉛 (lead citrate) 來染色, 再用 RCA EMU III G EM 來檢查, 每一樣本都有大於 100 個淋巴球被照像去估計那些不尋常且超微構造的特徵。

### 結果

將淋巴球的超微構造 (ultra-structure) 作定性及定量的描述, 發現有三種構造結合於內質網, 它們分別是: 微纖維物於內質網池 (cisternae) 內; 菱形 (rhomboid) 結晶結合於內質網以及粒絲狀柱 (granulofilamentous cylinders)。

#### 一、在內質網池內的微纖維物

不論是正常或白血病患者, 顆粒性內質網是不常存在於周邊血液淋巴球內; 它是以前層狀隨意地分佈於整個細胞質內。在一些 C.L.L. 患者的淋巴球內, 內質網的排列具有極性化。低倍鏡下, 內質網池之內含有許多稠密的均質性物質; 於高倍鏡下, 這物質含有緻密的成束纖維, 直徑大約為 11 nm。在一些切面下, 內質網池 (cisternae) 內具有微纖維物, 其所含的量依切面角度或細胞生理狀況的不同而有差異。就病人 B 的六次血液樣本, 其淋巴球的比數始終相似, 並且都具有微纖維物於內質網內。而病人 D 雖具有一些稠密物質於內質網的池 (cisternae) 內, 但始終未發現有如上所述的微纖維構造 (fibrillar structure)。至於高爾基氏

體 (Golgi apparatus) 則未曾發現有微纖維物的存在。從以上觀察顯示微纖維物 (fibrillar matter) 於排出細胞前, 是儲存於內質網內。

#### 二、晶狀體 (Crystalline bodies)

病人 C 的淋巴球細胞質含有長菱形晶體, 其體積不等, 最大的寬度為 0.8 μm, 這些晶體被層狀內質網所包圍。於高倍鏡下, 晶體為薄層狀格子構造, 每 10 nm 為一週期, 每一薄層寬為 4 - 5 nm, 並且與晶體的長軸成平行狀態。病人 C 大約有 20% 的淋巴球經隨意切面後, 都有一個以上的晶狀體出現, 這些晶體的平均面積為 0.40 μsqm 而淋巴球細胞質平均為 10.2 μsqm。從一些資料估計, 88% 的淋巴球具有晶狀體 (crystalline body) 亦即說幾乎所有的淋巴球都具有它。2 年後, 作第二次研究發現, 晶狀體 (crystalline body) 仍以相同的頻率出現於淋巴球內, 同時這病人的淋巴球內質網內並不含有微纖維物 (fibrillar matter)。

#### 三、粒絲狀構造

於一些 C.L.L. 患者淋巴球中現具有一些複雜中空的柱狀體, 經切面提示, 這些小體的中心部分被內質網所包圍。從縱切面下觀察, 柱狀體的外壁包含有 4 - 5 層薄而具絲狀物 (filaments), 其大小大約為 100 - 200 nm。許多大小相似, 形狀類似於顆粒排列於絲狀物的小顆之間, 但無接觸。這柱狀體的兩端是開放式的。在低倍鏡下, 柱狀體的橫切面具有 4 - 5 層的同心膜 (concentric membrane) 並且其間有顆粒的堆積, 這些膜於高倍鏡下顯示為點狀物, 提示它們可能是由許多直絲狀物 (straight filaments) 連續排列, 並且各個互相平行於其長軸。進一步發現這些絲狀物表現呈螺旋狀 (spiral formation) 類似於鬆且卷曲的竹籐。既然絲狀物及膜是構成柱狀體的主要成分, 所以這柱狀體亦即是粒絲狀構造 (granulofilamentous structure)。

表: 比較癌症與非癌症患者淋巴球中與內質網相關構造出現的頻率

| ER-associated Structures | Chronic Lymphocytic Leukemia | Other Lymphoproliferative Neoplasms* | Control |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---------|
| Fibrillar                | 5/61                         | 1/28                                 | 0/64    |
| Crystalline              | 1/61                         | 0/28                                 | 0/64    |
| Granulofilamentous       | 9/61                         | 0/28                                 | 0/64    |

The numerator indicates the number of patients with the ER-associated structures and the denominator the total number of patients studied in each group.

\*Other types of leukemia (n = 8), lymphosarcoma (n = 12), multiple myeloma (n = 1), Hodgkin disease (n = 7).

†Healthy individuals and patients with no history of any malignancy.



## 討論

顆粒性內質網是負責分泌及合成蛋白質，其池(cisternae)通常是擴大的，並且充滿著高電子密度的物質。這些合成的物質被轉送至高爾基氏器(Golgi apparatus)去儲存；同樣的現象，發生於造血系統，但不發生於淋巴球。微纖維物(fibrillar matter)合成於淋巴球中粗糙性內質網的池(cisternae)內，但是微纖維物並不轉送至高爾基氏器(Golgi apparatus)，縱使這些淋巴球的高爾基氏器(Golgi apparatus)發育良好，而且其層狀構造與內質網相連續。菱形晶體(rhomboid crystal)被發現於1名C.L.L.患者的周邊血液淋巴球內。據報告：這晶體呈現斜方向且週期性。由晶體的性質以及與粗糙性內質網的關係，提示某些蛋白質是它們的主要成分。Hurez et al及Cawley et al相信這晶體分別含有IgM及IgA。粒絲狀(granulofilamentous)中空柱狀體構造曾報告於C.L.L.患者，hairy cell白血病(leukemia)，單核芽母細胞白血病(monoblastic leukemia)及巨球蛋白血症以及因淋巴瘤(lymphosarcoma)所造成骨髓癆(myelophthisis)之患者的脾臟及淋巴結中。這構造有許多種描述法如：granule-lamella complex; granulolamellar structure; ribosome-lamella complex。

對這構造的立體重建，Daniel及Flandrin曾表示：層狀(lamella)部份可以由微纖維排列構成，這些微纖維都連接於一薄膜上，而且其螺旋體結構(spiral configuration)形成了這小體(body)的外壁。所以很明顯的，這些微纖維是它們的主要構成元素。既然這些微纖維於縱切面都表現直且硬狀，所以我們希望描述它們為絲狀體。

經由不同切面所得到的證據：內質網與粒絲狀體(granulofilamentous body)的關係僅是部份的，即中空柱狀體的中心部份是由內質網所包圍著，包圍的延伸是寄託在細胞的生理病理狀態，所以這些構造曾提議是來源於粗糙性內質網。

這三種內質網相關構造(ER-associated structures)通常是單獨發生於一部份C.L.L.患者的淋巴球中，且與化學治療無關，並且沒有一病人可同時含有三種構造。

為了探討C.L.L.患者淋巴球內內質網相關構造(ER-associated structure)出現的病因及性質，我們回顧所有的病例，針對下列因素來討論：1. 化學治療先於EM檢查；2. 疾病的階段；3. 絕對淋巴球的計數；4. 血液免疫球蛋白的測定；5. 病人的壽命。經研究發現這些細胞質內的構造與治療沒有關係；事實上，13位病人中有7位從未接受抗白血病治療，而具有1-2個的小體；更進一步地，對兩名病人作反覆超微構造的研究發現：治療對那些構造的出現率及種

類並無任何影響。同樣地，在病的過程中，該構造的種類和出現率並不因淋巴球數目的改變而發生變異。基於它們與內質網的關係，我們假設這些構造的組成分為蛋白質，同時它們不僅不轉送至高爾基氏器(Golgi apparatus)，也不排出於細胞外。由於僅作一名病人的免疫球蛋白，所以我們無法推斷該二者的關係。至於C.L.L.患者的壽命，其差異很大，最短的為3年，最長的已活16年(現仍在世)，可見這些內質網相關構造(ER-associated structures)的存在並沒有影響到該病人的生存率；例如：一病人在第一次的血液樣本中就發現有這些構造，並且四年後亦同樣存在，而這病人在次年就逝世了。另一病人於診斷後9年才發現有這些構造，但於檢查後四個月就死了。第三個病人在16年的病程中從未服用任何抗癌藥物，在診斷後7年的第一次血液樣本中發現有二種內質網相關構造(ER-associated structures)，並且於9年後以同樣的結果發現於第6次的血液樣本中。所以假設：內質網相關構造(ER-associated structure)似乎是白血病淋巴球(leukemic lymphocyte)的生理缺陷的結果，同時這假設因發現許多病人的細胞內有二種型式的包涵體後而得到支持。此外，從正常人，非癌症患者以及其他淋巴腫瘤患者的血液淋巴球，並沒有發現這些構造，但是在Hodgkin氏病(Hodgkin disease)或淋巴瘤(lympho-



sarcoma ) 患者的造血組織 (非血液) 中的淋巴球是否具有仍未知, 所以我們認為僅在一小部份 C.L.L.

患者的淋巴球中發現這些構造的存在, 並不能表示就是該疾病的主要徵候。

### 主要參考資料

- 1 Harvey R. Gralnick : Classification of acute leukemia. *Annals of internal medicine* 87: 740-753 1977
- 2 Joseph Kaplan, Yaddanapudi Ravin Dranath, Ward D. Peterson Jr. : T&B lymphocyte Ag(+) Null cell leukemia. *Blood*, Vol. 49 No. 3 (March) 1977
- 3 Wintrobe: *Clinical Hematology* 1974
- 4 David W. Golde, Carmon Burgaleta, Robert S. Sparkes, Martin J. Cline : The Philadelphia chromosome in human macrophages. *Blood*, Vol. 49, No. 3 (March) 1977
- 5 Thomas ED, Ramberg RE, Sale GE, Sparkes RS, Gold W: Direct evidence for a bone marrow origin of alveolar macrophage in man. *Science* 192 : 1016-1018 1976
- 6 Keiichi Nagao, Hiroshi Yonemitsu, Kakutaro Yamaguchi, Kunio Okuda : A case of AML with Ph<sup>1</sup> chromosome showing translocation 9q<sup>+</sup> : 22q<sup>-</sup>, *Blood*, Vol. 50 No. 2 (August) , 1977
- 7 Review of medical microbiology, 12th. 1976
- 8 Samuel I. Rapaport. : Introduction to hematology 1971
- 9 Ludwik Gross : The role of C-type and other oncogenic virus particles in cancer and leukemia. *New England Journal of Medicine* Vol. 294 No. 13 1976
- 10 當代醫學, 第五卷第三期, 病毒與白血病。
- 11 T. M. Seed, D. V. Tolle, etc. "Irradiation-induced Erythroleukemia and myelogenous leukemia in the beagle dog" *Blood*, Vol. 50 No. 6 (December) 1977
- 12 Dorothy F. Bainton, Lawrence M. Friedlander, and Stephen B. Shohet : Abnormalities in granule formation in acute myelogenous leukemia. *Blood*, Vol. 49 No. 5 (May) 1977
- 13 Elisabeth Cramer, Christian Auclair etc. : Metabolic activity of phagocytosing granulocytes in chronic granulocytic leukemia: ultrastructural observation of a degranulation defect. *Blood* Vol. 50 No. 1 (July) 1977
- 14 S. Stefani, S. Chandra, R. Schrek, H. Tonaki, W. H. Knospe: Endoplasmic reticulum-associated structures in lymphocytes from patient with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* Vol. 50, No. 1 (July) 1977
- 15 Emil J. Freireich: Grounds for optimism in treating acute granulocytic leukemia (Adult acute leukemia). *Arch intern med.* - Vol. 136, Dec. 1976