《高级法医学》编著者名单

主　编　伍新尧

副主编　张益鸽

撰稿者（以姓氏笔画为序）

王江峰	中山医科大学法医学系	博士
王慧君	第一军医大学病理教研室法医组	教授
吕俊苞	中山医科大学法医学系	副教授
吕德坚	中山医科大学法医学系	讲师
伍新尧	中山医科大学法医学系	教授、博士生导师
刘小山	中山医科大学法医学系	讲师
刘　东	广东省公安厅交警总队	主检法医师
刘　敏	四川大学华西法医学院	副教授
许传超	中山医科大学法医学系	博士生
孙宏钰	中山医科大学法医学系	博士生
李建金	中山医科大学法医学系	讲师
余彦耿	广东省公安厅技术科	主检法医师
宋一璇	中山医科大学法医学系	教授
张益鸽	华中科技大学同济医学院法医学系	教授、博士生导师
陆惠玲	中山医科大学法医学系	副教授
罗　斌	中山医科大学法医学系	副教授
胡内杰	中山医科大学法医学系	副教授
胡　蓉	中山医科大学法医学系	硕士生
黄奕才	广州市公安局刑警支队	高级工程师
庾　蕾	中山医科大学法医学系	博士生
程海鹰	广东省增城市公安局	主检法医师
赖　跃	广东省深圳市公安局	副主任法医师
蔡贵庆	中山医科大学法医学系	博士
廖志钢	四川大学华西基础医学院和法医学院	教授
黎　黎	中山医科大学统计学教研室	讲师

内容提要

本书是在中山医科大学法医学研究生专业课程授课内容的基础上，邀请全国法医学的一些专家学者编写而成。内容包括了法医病理学、法医临床学、法医物证学、法医人类学中的重要部分，也介绍了法庭昆虫学，生物芯片技术及其法医学应用，中国中毒案的特点和精神疾病与暴力行为等。这些都是目前法医工作中难度较大的、进展较快的、内容较新的或具有普遍指导意义的内容。本书的特点是将上述内容以专题形式，通俗易懂的语言，全面、系统地介绍国内外在这些领域中的理论和检验技术的最新进展和成就，特别强调新的思路和在实践中推广应用的新技术。全书约 70 多万字，共 23 章，并附有精彩珍贵的插图。书末还附录了国内外一些很有价值的参考资料。

本书可作为法医学研究生的教材，但在使用时，对不同法医学分支学科的研究生的要求应有所侧重。本书也是法医工作者和法医学专业本科生很有价值的参考书，亦可作为医师、检验师、法律工作者和其他对法医学有兴趣的读者的参考读物。

随着社会主义法制的加强，为满足用人单位对高层次法医学专业人才的需求，我国高校法医学院（系）或法医学教研室于20世纪70年代末开始，先后陆续招收法医学硕士生，后来，其中一些院（系）开始招收法医学博士生，部分院（系）于90年代又建立了博士后流动站。中山医科大学法医学系近年来为研究生开设了法医学专业课程，由于教学工作的需要，该系组织副高职称以上教师，每人分工选择一个专题，编写研究生用的教材；在此基础上，又联系部分兄弟院校的法医学教授及公安部门的法医学专家共同编写了这本专著；因此，这本主要面向高层次法医学人才培养而编写的专业教材的出版发行，在我国尚属首次。

本书编者大多数是高校法医学院（系）的中青年骨干教师，也有工作在第一线的法医专家；他们具有扎实的基础理论和系统深入的专业知识；多年来他们参加大量法医学鉴定实践和科研活动，积累了丰富的经验，并发表过多篇质量较高的论文。本书各章的内容主要是根据各位编者的专长，并参考国内外其他作者的科研成果和最新进展，以专题形式编写而成。

近二三十年来，免疫学、分子生物学、细胞遗传学和定量病理学的发展，以及免疫组织化学、流式细胞术、图像分析技术、分子生物学及PCR－STR分型等新技术的应用，对传统的法医学的发展产生了深刻的影响；学科之间互相渗透又为法医学的发展带来新的活力和机遇。由于法医学的内容覆盖面很广，本书共二十三章，涉及法医学科的主要内容（包括法医病理学、法医毒理学、法医临床学、法医物证学、法医人类学、法医精神病学等）；其中有法医学领域某些专题的新进展，例如有关颅脑损伤的进展；有关亲子鉴定和血缘关系鉴定的进展；有的则是近年来我国法医学实践中经常遇到，而又较为疑难的课题，例如损伤时间

的推断、早期死亡时间的推断、杀人碎尸案的鉴定、医疗纠纷和非法行医的鉴定、某些疾病猝死（如急性出血坏死性胰腺炎）的病理诊断泛化问题；也有新技术、新方法在法医学中的推广应用，例如早期心肌梗死检查方法的介绍、生物芯片技术与法医学应用等。特别值得提出的是，本书的部分章节还反映了高校与公安部门通过长期科研合作所取得的研究成果，例如中山医科大学法医学系与广州市公安局刑科所合作，对心脏传导系统病变与猝死关系的研究；浙江大学应用昆虫学研究所与公安部第二研究所、浙江省公安厅、杭州市公安局刑科所合作，对法庭昆虫学的研究；上述二个项目都是高校与公安部门科研合作取得丰硕成果的成功范例，并已出版了有关专著。

本书虽主要是为研究生用的法医学教材，但由于本书所选择的都是法医学领域中进展较快、应用性较突出或启迪性较强的专题，编者结合自己的实践经验，又查阅了大量国内外近期文献编写而成，行文流畅、深入浅出、图文并茂。因此，本书也可作为医学院校、政法院校师生和广大基层法医工作者的参考书。

华中科技大学同济医学院

黄光照教授

2001 年 9 月

前言

社会的现代化必须同时法治化。在有合理的司法制度前提下实现法治，要求有高素质的法医和合理的法医学鉴定体制。随着改革开放，我国的经济在腾飞，科技在发展，人民生活水平在提高，整个国家的综合实力在发展，国际地位在提高。与此同时，我国的法治建设在迅速地加强，人们的法律意识普遍提高。越来越多的人懂得依靠法律来保护自己的合法权益，在此过程中，对证据的重要性的认识在加深。

我国司法制度中引入"沉默权"制度，实际上是从原来的"有罪假定"向"无罪假定"过渡，这是中国司法制度的一个历史性进步。在这种司法制度下，证据的作用更加突出。法医工作就是为司法审判提供科学证据，其在加强我国法治建设中的地位得到了各界人士的认同和重视。21 世纪对我国法医鉴定的质量和水平提出了更高的要求。应该说，目前这个时期是法医工作者可以大显身手的好机会。另一方面通过 20 多年的努力，我国法医队伍不断发展壮大，水平在不断地提高。这些年来，法医工作者采用科学手段解决了许多重大疑难案件，使正义得到了伸张，邪恶受到了惩处。但是与国外一些发达国家相比，我们在某些方面还有一定的差距。我国地广人多，地区之间的发展差距甚大，如何提高我们法医队伍的整体水平，提高法医学各分支学科的法医鉴定质量，更好地为社会主义现代化建设服务，是我们的首要任务。

编写本书的设想是在安排中山医科大学法医学研究生专业课的授课内容时逐渐形成的。这一设想几经反复，最后在许多方面的鼓励支持下终于定下来，目的在于从较高的层次来要求法医队伍，来考虑提高法医队伍的整体水平。这一想法，得到国内一些有学术造诣的法医学家的支持和帮助。我们通过本书，对法医工作中重要的、难度较大的、进展较快的、内容较新的、手段先进的或具有普遍指导意义的一些专题进行了系统深入的探讨；把国内外在相关专题方面的新理论、新技术、新成就、新思路介绍给读者，希望能广开思路，启迪读者，激发创新性；同时也突出法医学的实践性。鉴于以上的考虑，本书对许多法医学书籍上已介绍的基本概念不再重复。力求给读者，特别是较高层次的读者一个新的感觉。

在编撰本书的过程中得到了各方面人士的大力支持，法医病理学部分的书稿由张益鸿教授做了详细认真的审阅，生物统计学的内容请了柳青教授审阅。

中山医科大学教务处，特别是刘甘泉副教授给予许多方面的鼓励支持；刘捷老师、许传超博士生做了大量的打印、文

字编排工作，在此表示感谢！

由于本书编写时间紧促，内容涵盖的学科面又广，加上编者水平有限，难免有错误和不妥之处，恳请读者不吝赐教。

作者

2001 年 8 月

前言



照片图 9-1　碎尸案尸块常用的包装物

密码箱、毛巾、塑料袋和捆绑尸块的封口胶、塑料布。躯干尸块上下两端均用白色毛巾填塞，防止血液流出



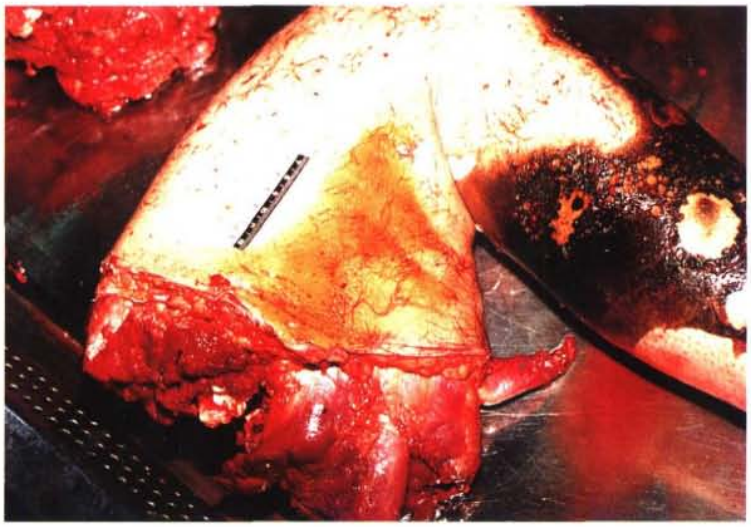
照片图 9-2　不同尸块同一性认定的常用检验方法

尸块断端的形态学比对，尸块断端的皮肤断离缘吻合良好，接合后表现出形态学的完整性，比对结果可靠



照片图 9-3　被杀女性碎尸后严重毁容

此图被害者面部被砍 410 刀，并将头颅放入油锅油炸



照片图 9-4　碎尸尸块严重毁坏

女性杀人碎尸常见肢解手法技术性差，尸块严重毁坏。此图片为死者左大腿中上段被刀砍断，并用汽油烧焦部分皮肤



照片图 9–5　尸体面部严重毁坏

女性死者大部分脸皮被剥去，头发被剪得参差不齐



照片图 9–6　女性死者的整个被剥离的脸皮



照片图 10–1　颅像重合术之一

摄照片像



照片图 10–2　颅像重合术之二

设置审定线



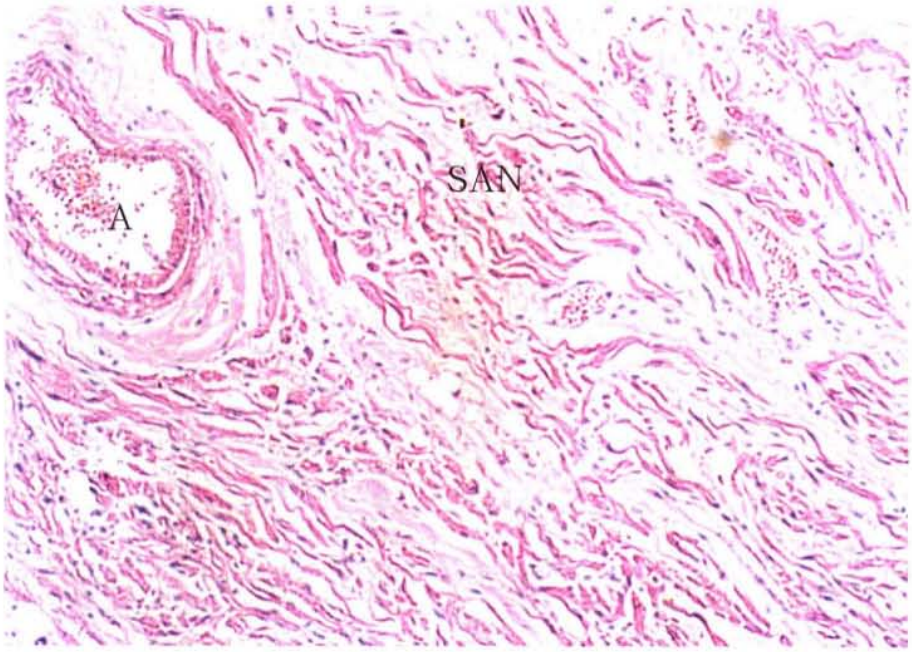
照片图 10–3　颅像重合术之三

审定照片方位、角度，调整颅骨图像



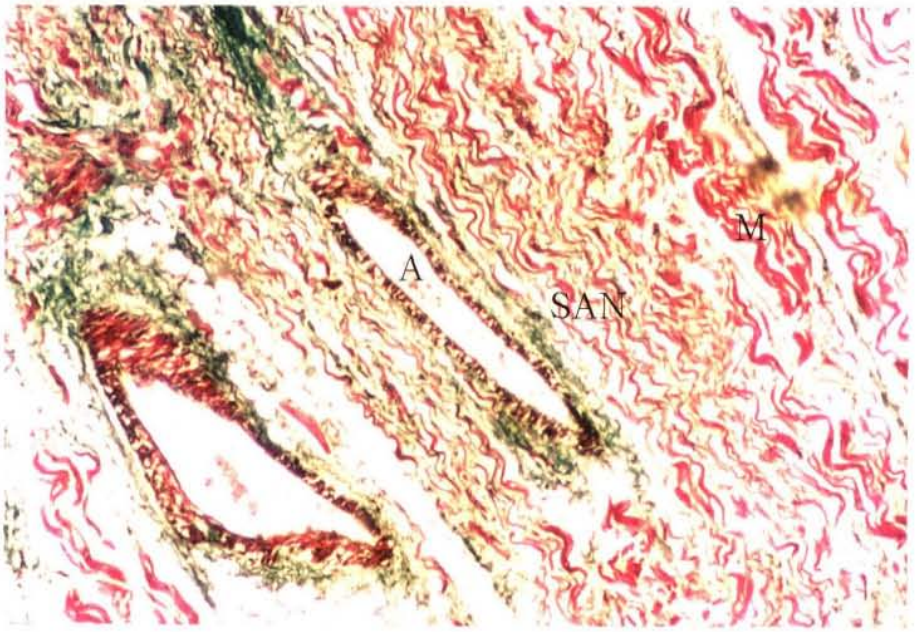
照片图 10–4　颅像重合术之四

重合投影



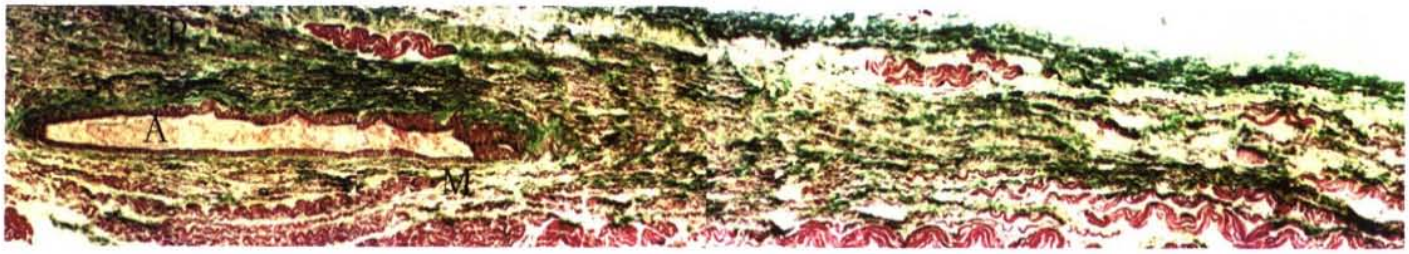
照片图 12-1　窦房结（HEx100）

A：窦房结结动脉：动脉周围窦房结结细胞成层排列，较纤细，呈弯曲状



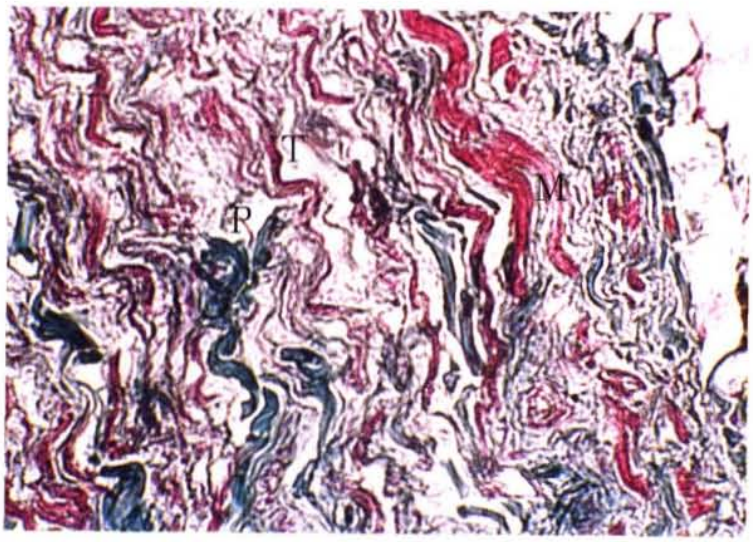
照片图 12-2　窦房结（特染 x100）

A：为窦房结结动脉。动脉周围窦房结结细胞呈淡红色，弯曲状，成层排列，其间见绿染的胶原纤维，少量脂肪组织。右上方见深红染、较粗大的心房肌纤维（M）



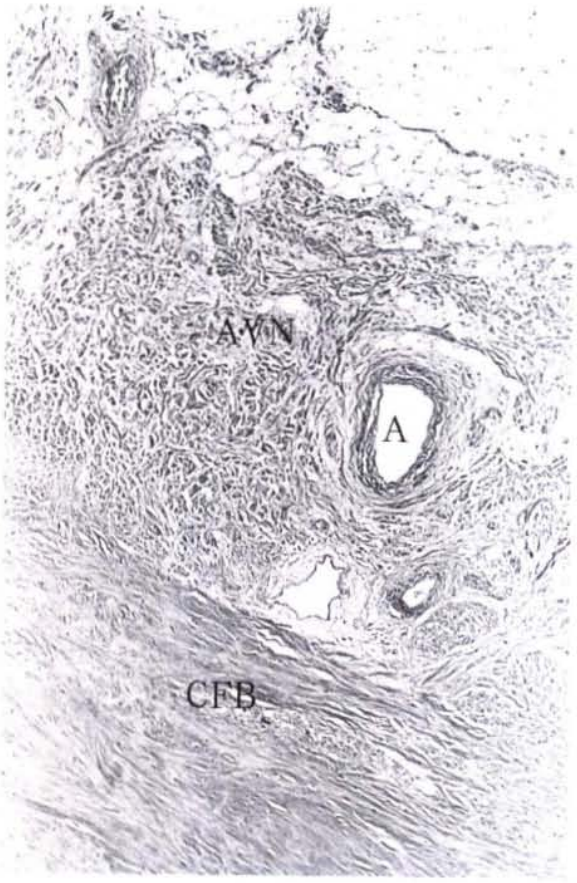
照片图 12-3　窦房结全貌（男性，27 岁，特染 x40，电脑扫描制作）

A：SAN 结动脉；P：结细胞；M：右心房肌纤维



照片图 12–4　SAN（特染 x400）

图中淡红染，纤细弯曲状为P细胞（P);淡红染，大小介于P细胞及心房肌细胞之间，为T细胞（T);右上方深红染，较粗大的为心房肌纤维（M);绿色为胶原纤维;黑褐色、较纤细的为弹力纤维



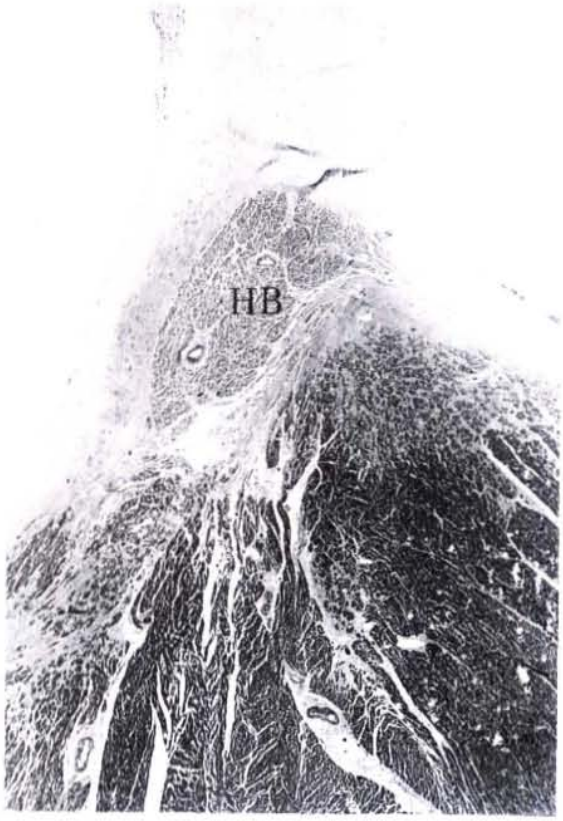
照片图 12–5　AVN（HEx40）

A：AVN结动脉;AVN:房室结细胞围绕结动脉排列成网状，形似迷路;CFB:为中心纤维体



照片图 12–6　AVN（HEx400）

高倍镜下AVN 主要以T细胞为主，有少量P细胞，交织成网状



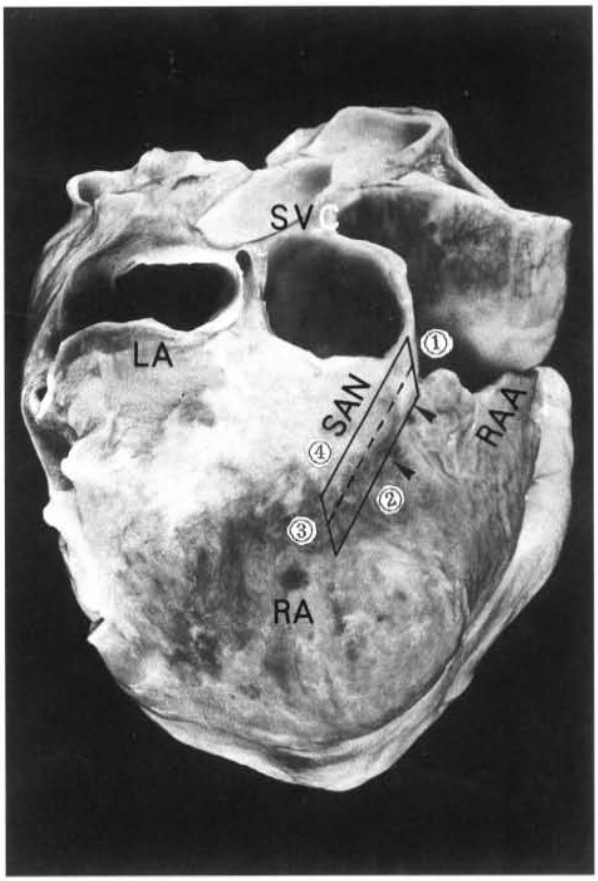
照片图 12–7　HB（近侧端，HEx20）

HB周围有纤维组织包裹，似岛状，呈卵圆形。下为室间隔肌部



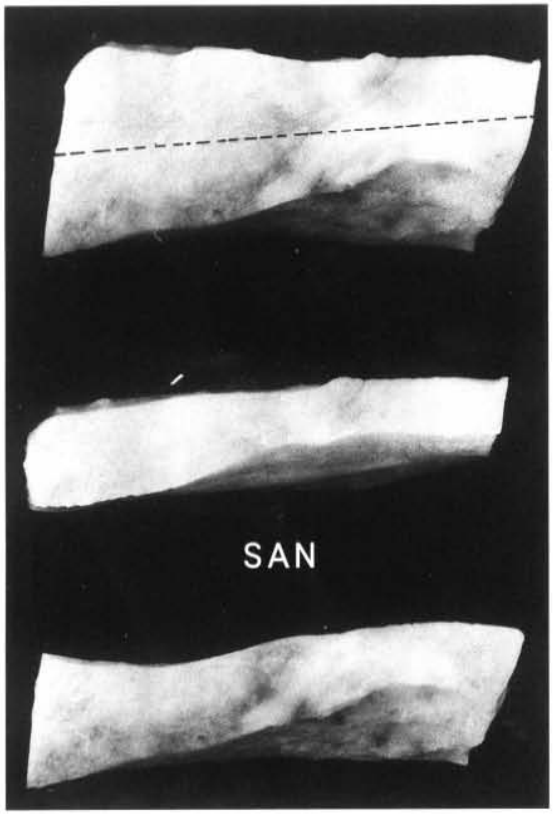
照片图 12–8　HB（远侧端，HEx20）

HB 如三角形小岛，周围被纤维组织包裹。在室间隔肌部上缘分为左、右两束支

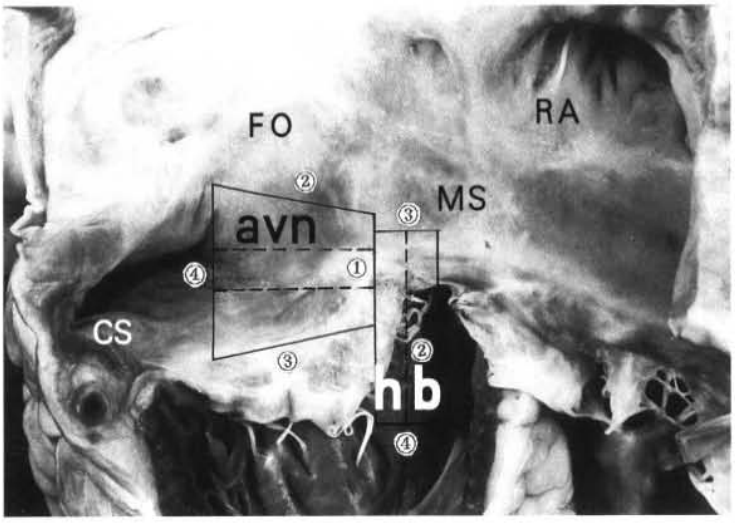


照片图 12–9　SAN 定位及纵切取材法

▲▲：示界沟位置；SVC：为上腔静脉；RAA：为右心耳嵴部

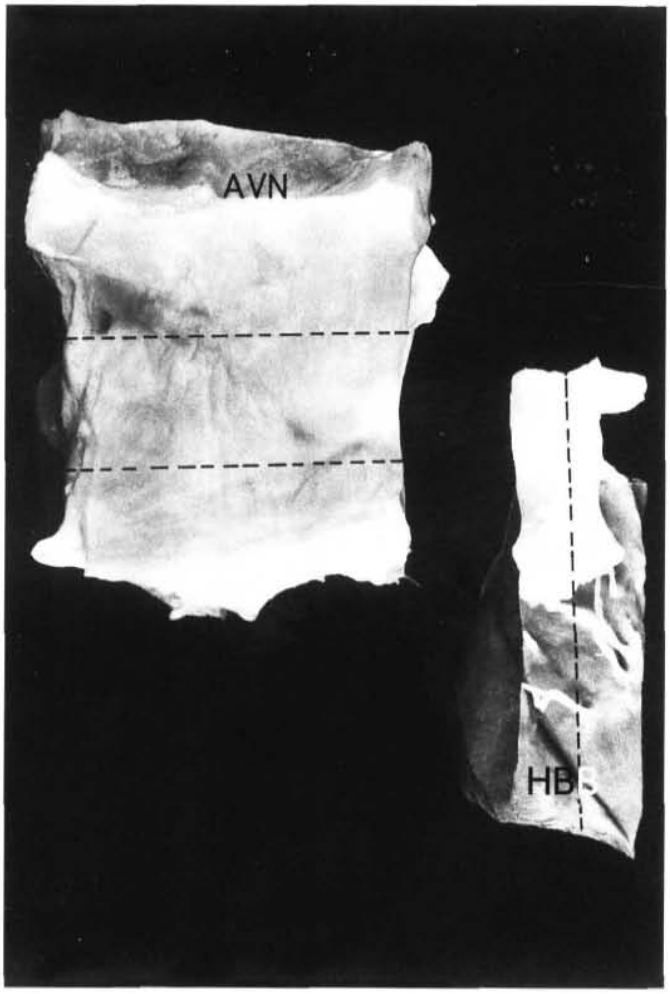


照片图 12–10　SAN 纵切取材法

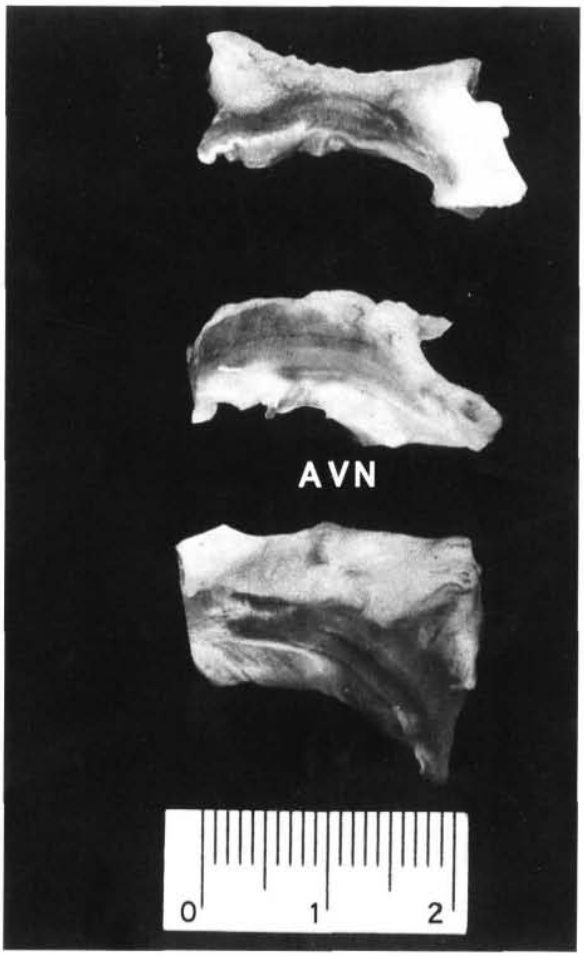


照片图 12–11　AVN（左）及 HB（右）纵切取材法

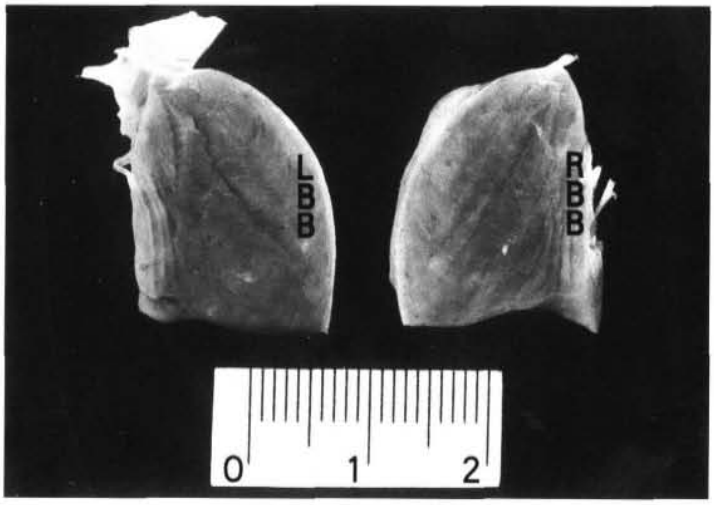
FO：卵圆窝；CS：冠状窦口；MS：膜部；RA：右心房



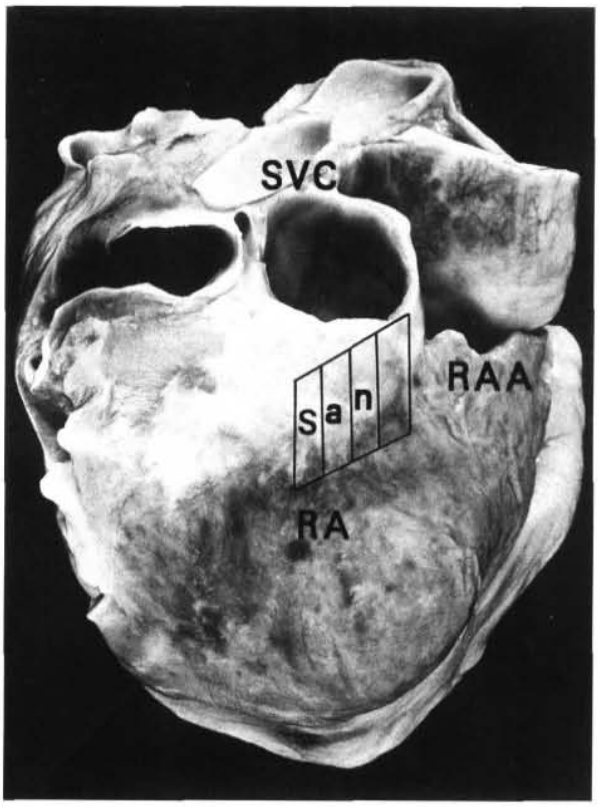
照片图 12–12　AVN（左）及 HB（右）纵切取材法



照片图 12–13　AVN 纵切取材法

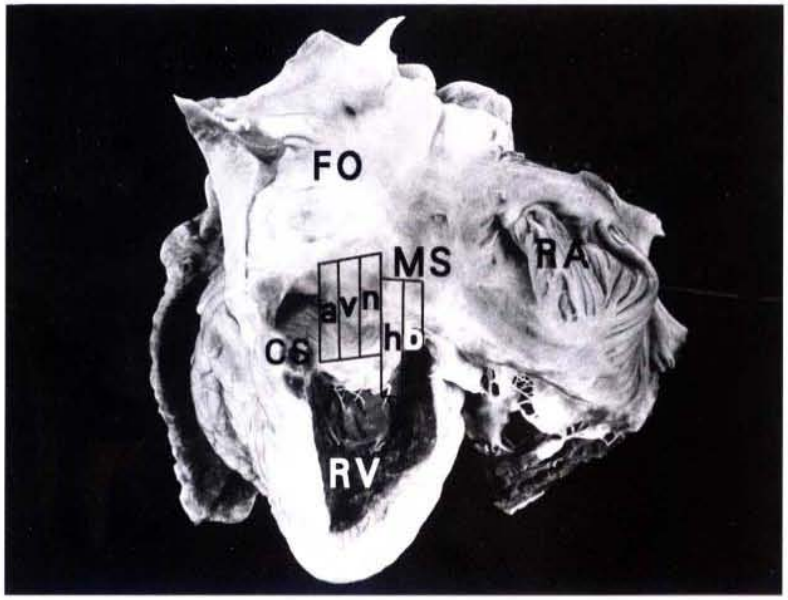


照片图 12–14　左、右束支纵切取材法



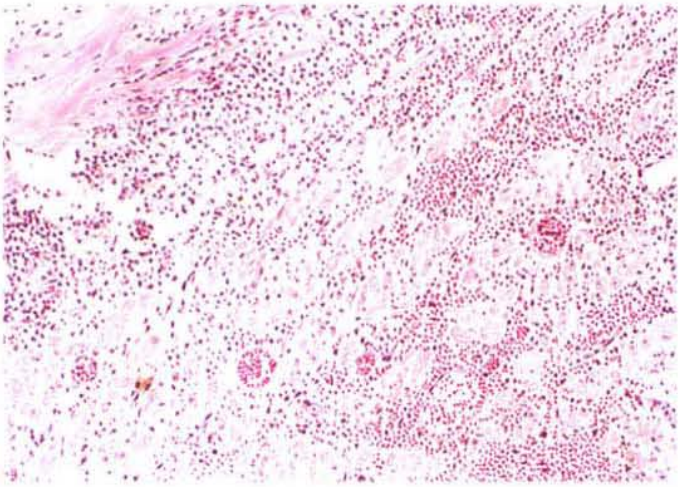
照片图 12–15　SAN 横切取材法

SVC:为上腔静脉; RAA:为右心耳嵴部; RA:为右心房



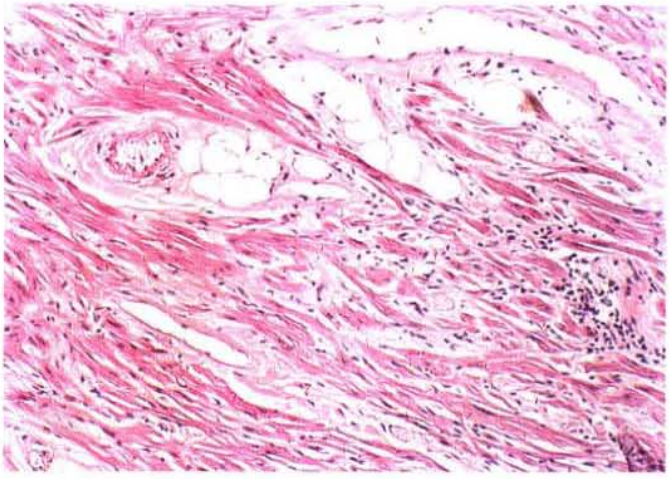
照片图 12–16　AVN（左）及 HB（右）横切取材法

FO:卵圆窝；MS:为室间隔膜部；CS:冠状窦口；RA:右心房；RV:右心室



照片图 12–17　AVN 出血（HEx40）

42 岁驾驶员因交通事故受伤，致胸骨骨折、心脏挫伤，送到医院抢救 2 d 后死亡。镜下见 AVN 内大量红细胞、炎细胞（淋巴细胞为主）浸润，肌纤维变压、变性



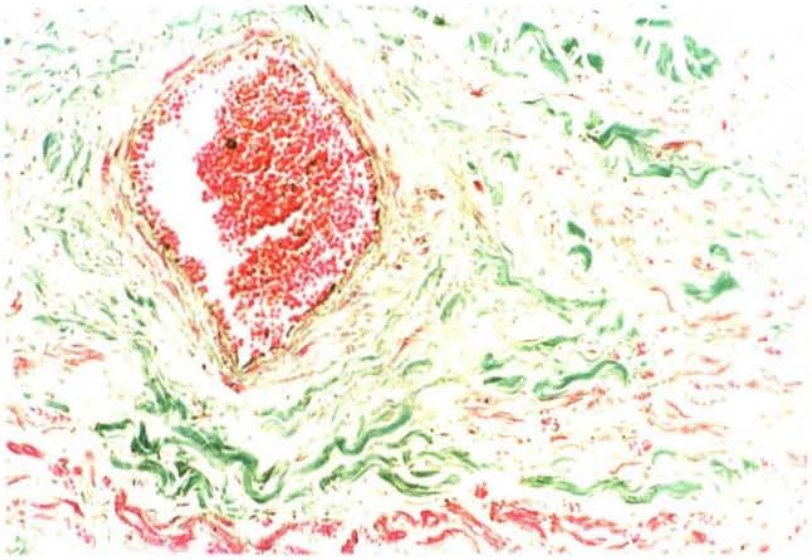
照片图 12–18　AVN 炎症（HEx100）

AVN 内见淋巴细胞灶性浸润，结细胞颗粒变性、液化性坏死



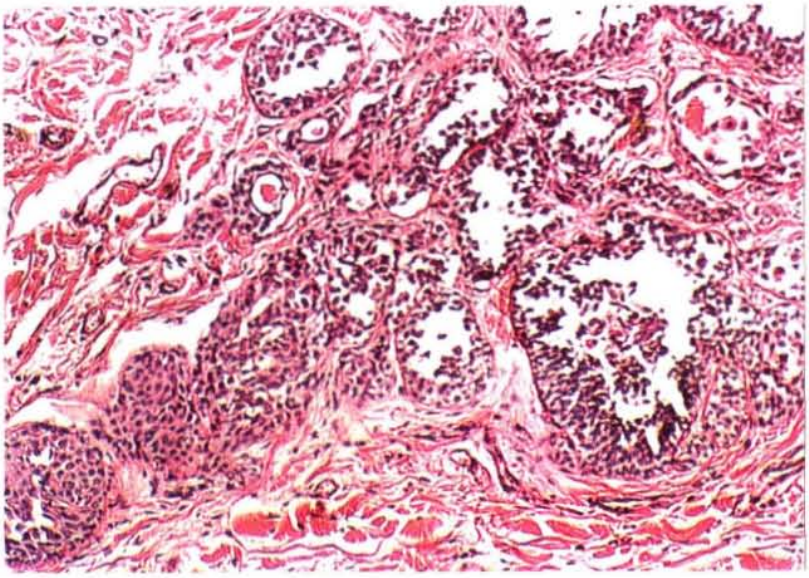
照片图 12–19　AVN 脂肪浸润（特染 x100）

81 岁女性，SAN 结细胞数量非常少，几乎被脂肪组织及胶原纤维（绿色）所取代。A:SAN 结动脉



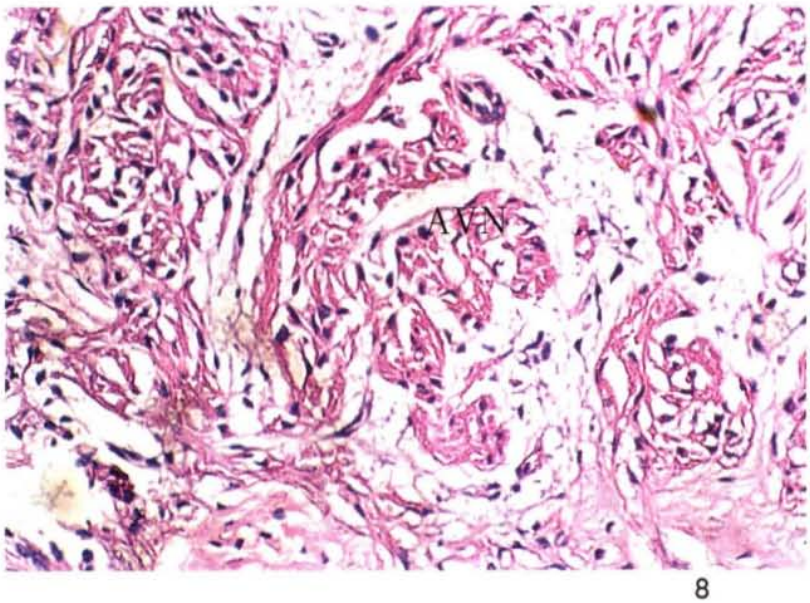
照片图 12–20　SAN 纤维化（特染 x100）

胶原纤维（绿色）明显增多，结细胞（浅红色）数目减少



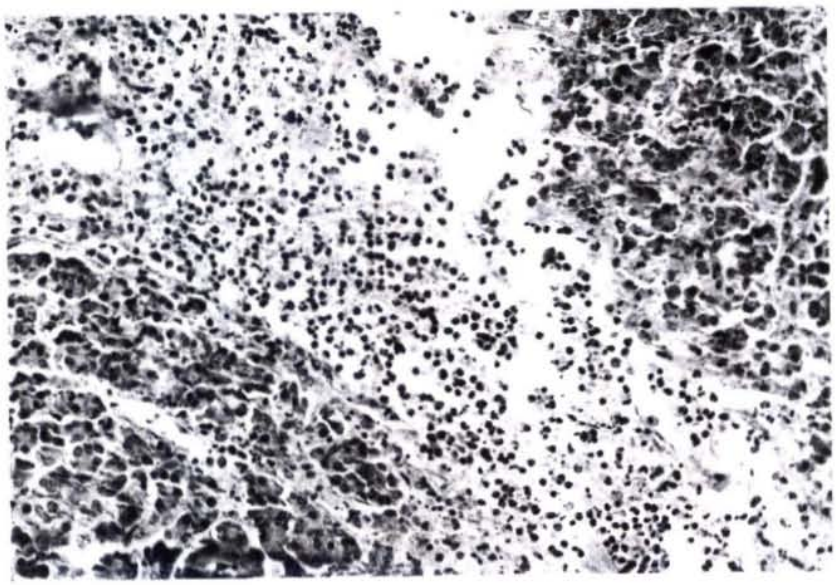
照片图 12–21　房室结间皮瘤（HEx100）

AVN 内瘤组织排列成实性细胞巢或大小囊、腺腔状，瘤细胞为扁平细胞、基底细胞。囊、腺腔被覆一层或多层立方上皮，腔内有嗜伊红物质



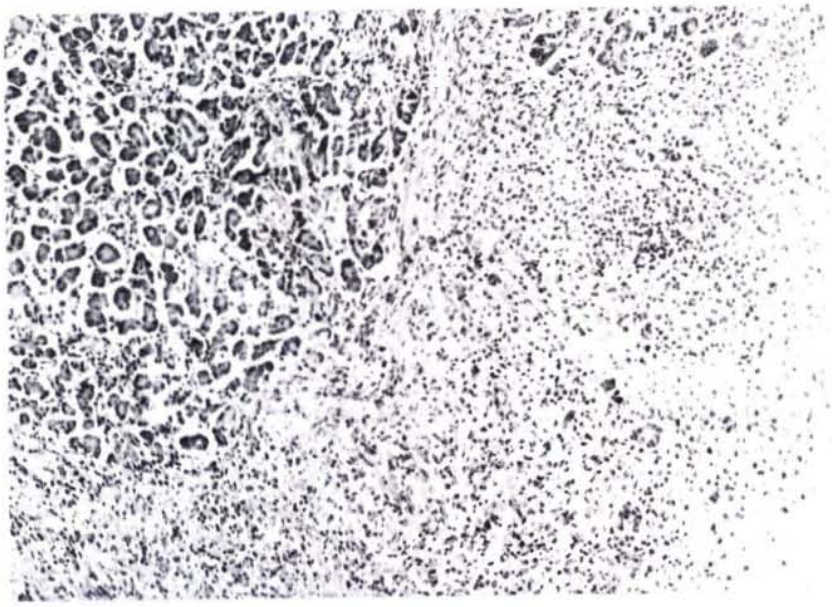
照片图 12–22　AVN 发育异常（成年人 AVN 呈胎儿型）

37 岁猝死者 AVN，移位至中心纤维体较深处，呈胎儿型



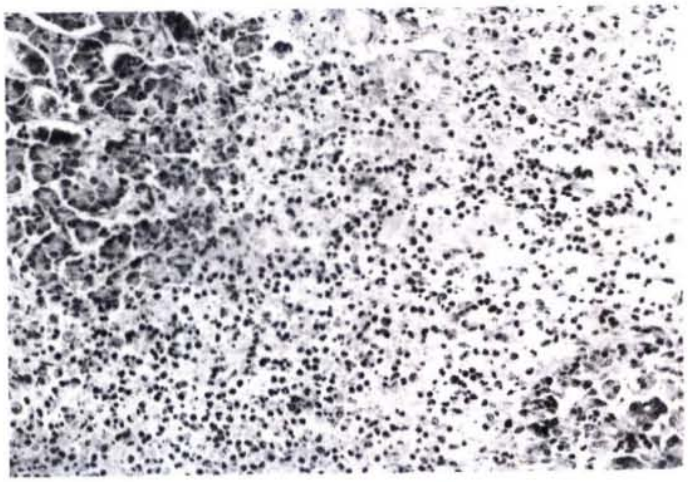
照片图 13–1　外伤性胰腺炎之一(HEx100)

图示胰腺灶性坏死，间质内大量中性白细胞及淋巴细胞浸润



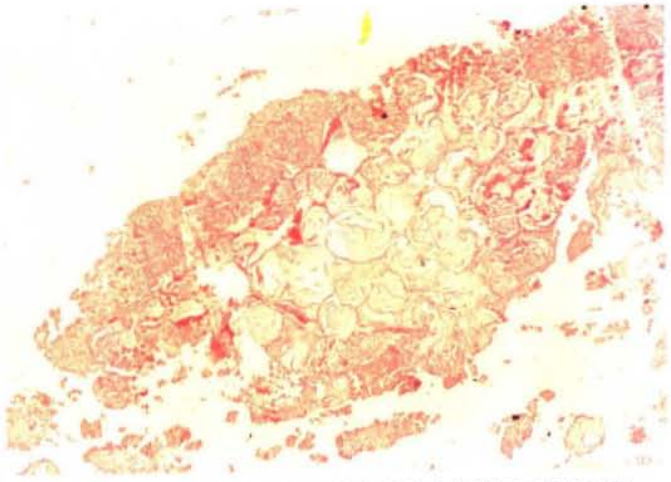
照片图 13–2　外伤性胰腺炎之二(HEx100)

与图13–1系同一案例，可见胰腺灶性坏死(右下)，实质内中性白细胞浸润（左上），间质内大量中性白细胞及淋巴细胞浸润并形成小脓肿（右上）



照片图 13–3　急性出血坏死性胰腺炎(HEx100)

见胰腺灶性坏死、崩解，间质内大量中性白细胞浸润



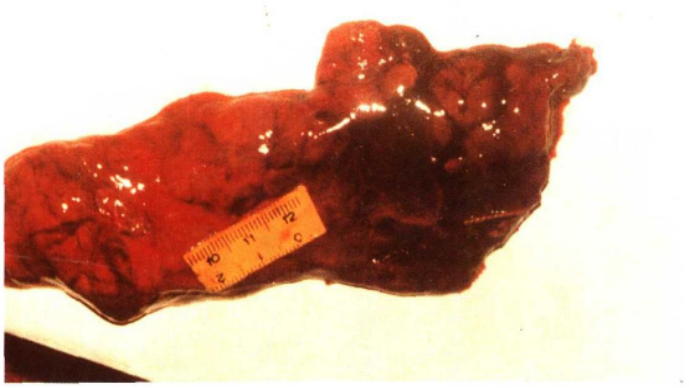
照片图 13–4　急性出血坏死性胰腺炎之脂肪坏死(HEx225)

坏死脂肪细胞核溶解、消失，胞质失去固有的透明状而变浑浊，还可见针状皂化结晶体



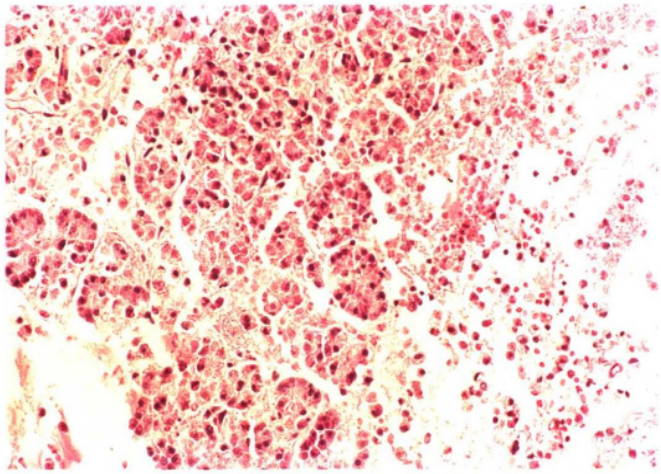
照片图 13–5　急性出血坏死性胰腺炎死者之胰腺肉眼观

在胰腺的剖面上可见主胰管内有一条蛔虫成虫体已被切成两半（图中白色条状物）



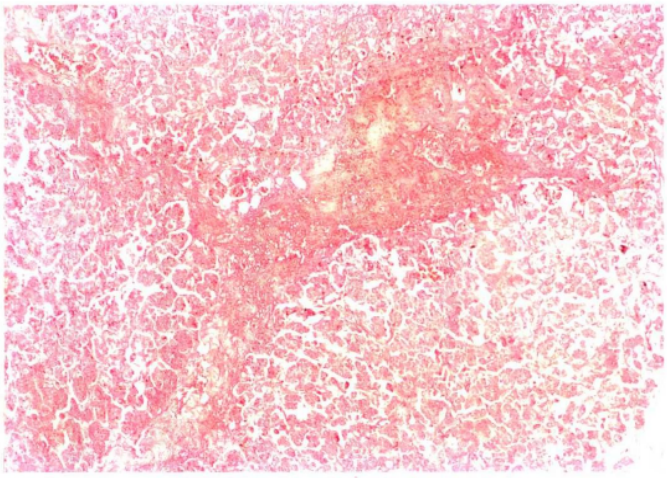
照片图 13–6　有机磷农药中毒死者的胰腺出血肉眼观

见胰头及胰体部被膜下显著出血



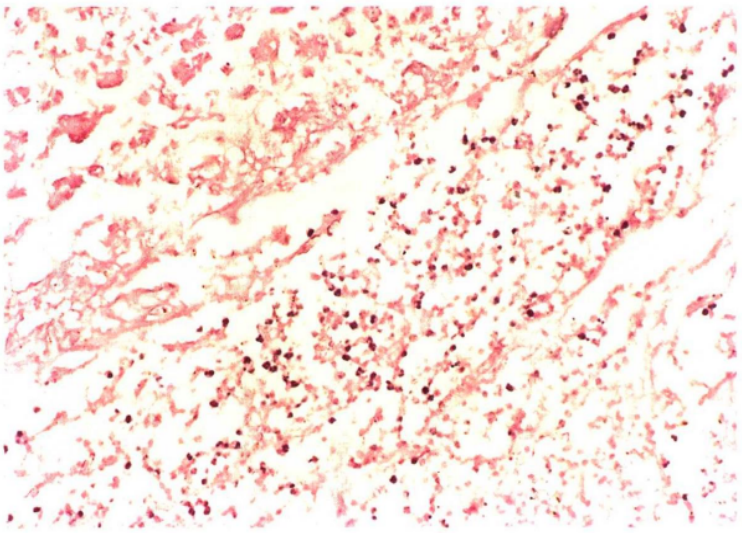
照片图 13–7　胰腺死后灶性自溶（HEx100）

胰腺实质灶性分布的自溶腺上皮细胞的核已溶解消失、胞质浑浊、周围的腺上皮细胞核深染、但无炎性细胞浸润及脂肪坏死



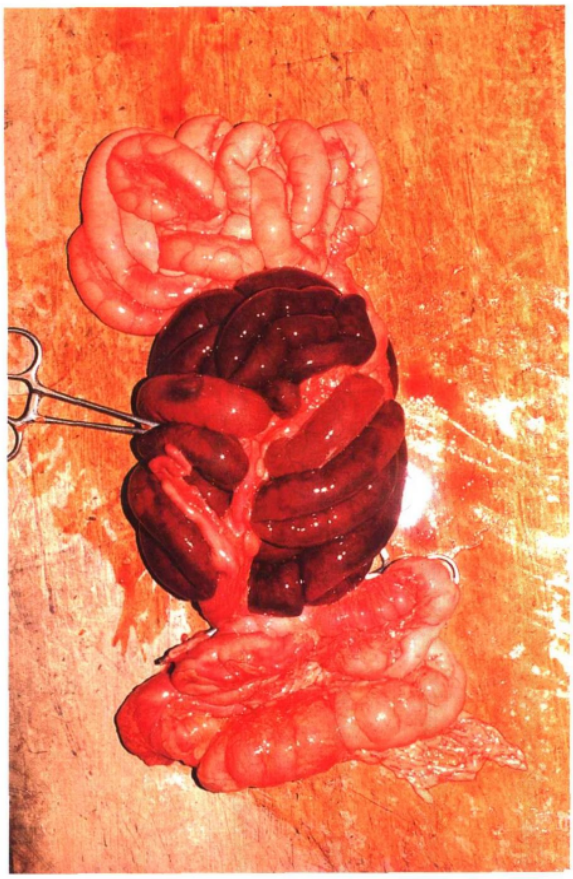
照片图 13–8　胰腺死后弥漫性自溶（HEx180）

间质内血液浸染、大部分红细胞已溶解



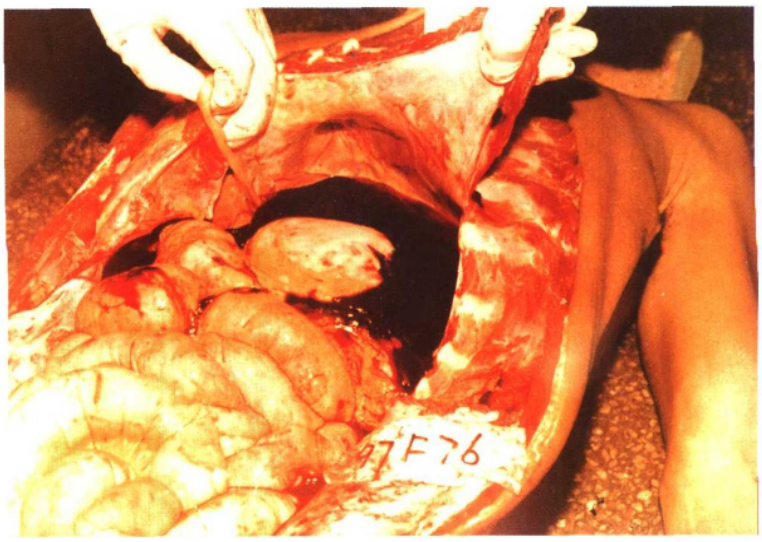
照片图 13–9　急性出血坏死性胰腺炎（HEx100）

胰腺死后弥漫性显著自溶、结构紊乱、但间质内仍可见尚未完全破坏的炎性细胞浸润



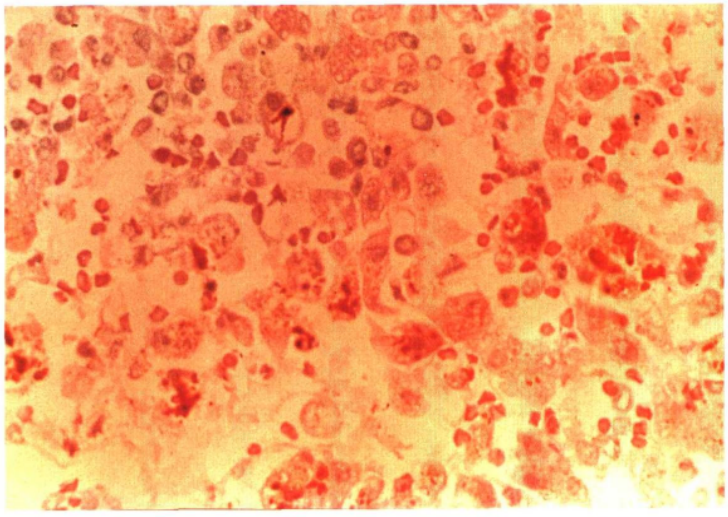
照片图 14-1　小肠扭转、坏死及出血

因误诊、误治致患儿死于急性循环衰竭



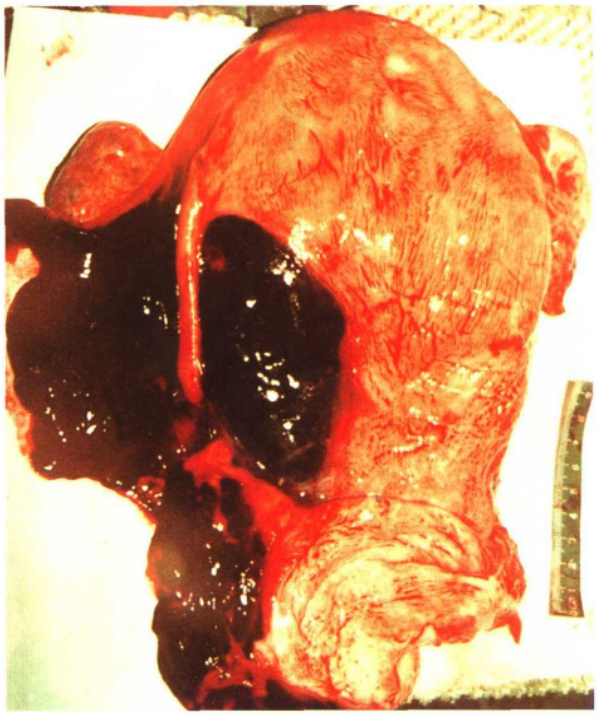
照片图 14-2　脾切除手术时因脾蒂血管结扎处松脱致急性失血性休克死亡

尸检见手术切除脾区大量血液聚集，1 200 ml 血液及 100～800 g 凝血块



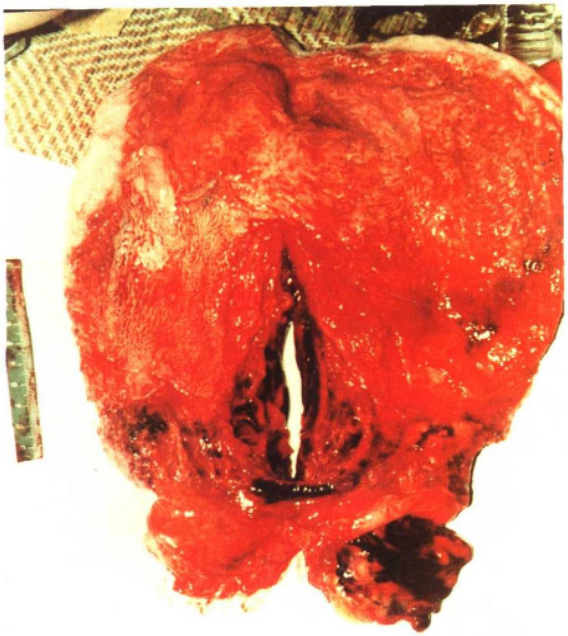
照片图 14-3　胆囊切除手术时误将肝总管结扎致肝细胞内广泛淤胆 (HEx200)

图示肝细胞内染成棕黄色的胆汁，最后死于肝肾综合征



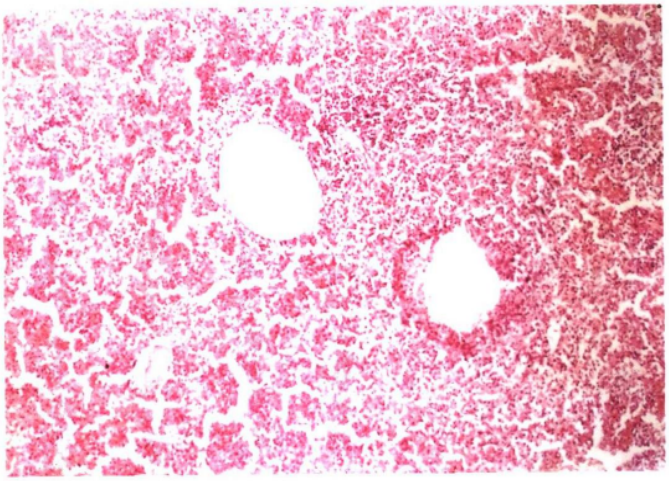
照片图 14-4　助产失误导致子宫破裂出血

图示尸检时所见死者盆腔内大量积血，约 1 200 ml



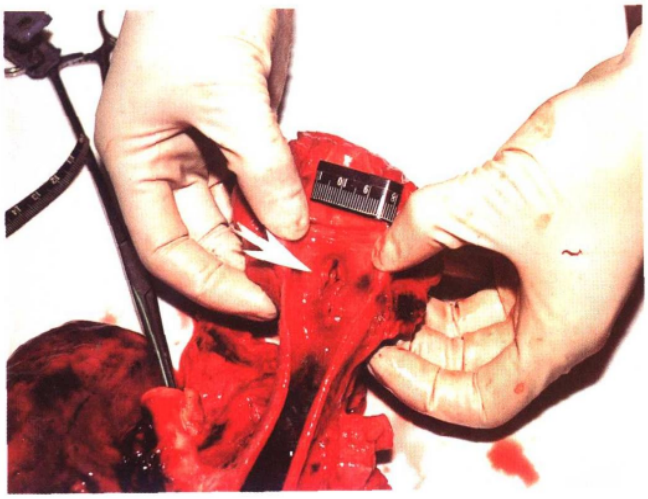
照片图 14-5　与图 14-4 为同一案例

见子宫壁破裂长 18 cm



照片图 14-6　脾空气栓塞（镜下观，HEx100）

图示脾实质内空气栓塞形成的小气泡

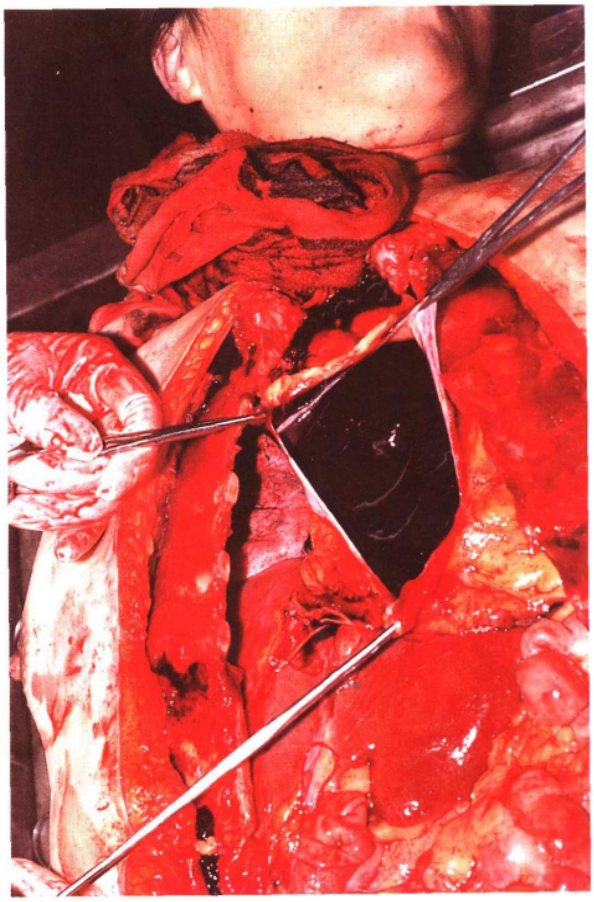


照片图 14-7　气管插管致气管上端撕裂出血（箭头指处）



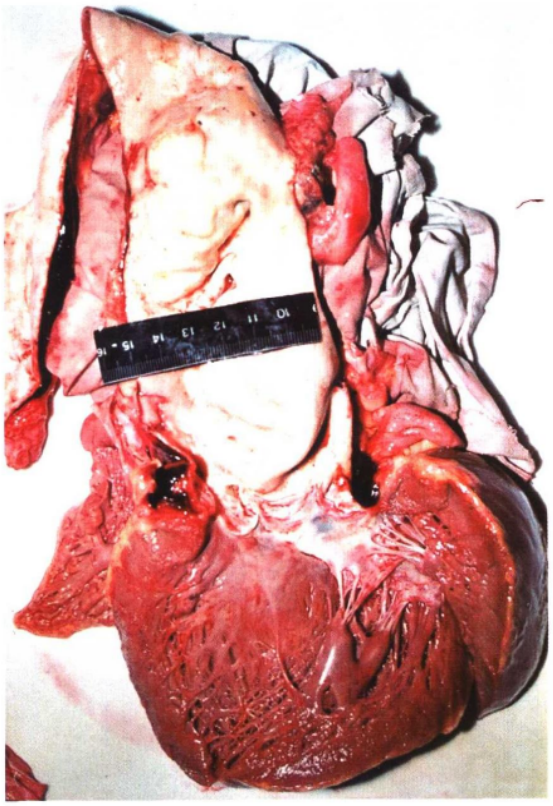
照片图 14-8　与图 14-7 为同一案例

图示气管及支气管腔内大量凝血块，两肺也见暗红色的血液吸入斑，最后因窒息死亡



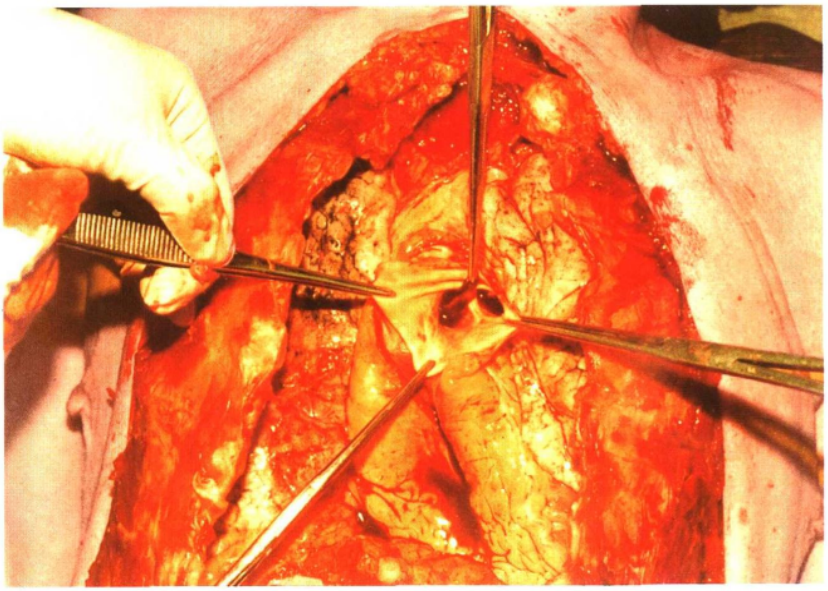
照片图 14-9　胸升主动脉夹层动脉瘤破裂出血

图示胸升主动脉夹层动脉瘤破裂引起的急性心包填塞，尸检见心包内大量凝血块充填



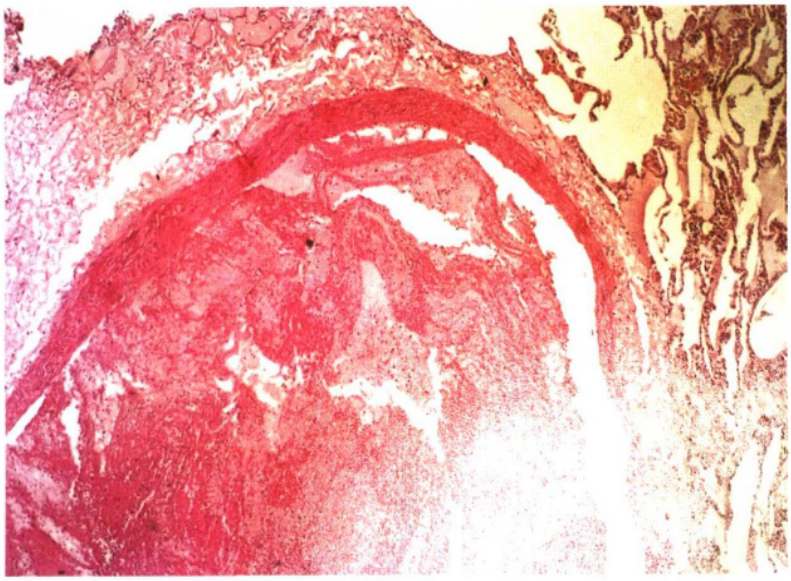
照片图 14–10　与图 14–9 为同一案例

图示胸升主动脉内膜破口处（标尺上方）



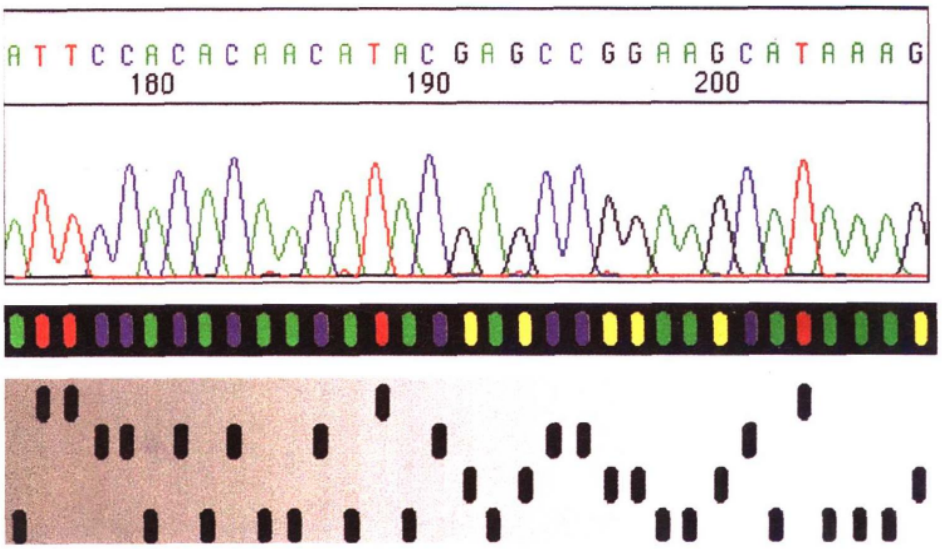
照片图 14–11　肺动脉栓塞尸检时肉眼观

图示在原位剪开心脏的肺动脉，可见其腔内有血栓栓塞（血管钳尖指处）



照片图 14–12　肺动脉栓塞镜下观（HEx200）

图示肺内血管腔被血栓充填而扩张，血栓由粉红色呈网状的血小板梁、红色的纤维素及其内的红细胞组成，不同于死后凝血块的组成

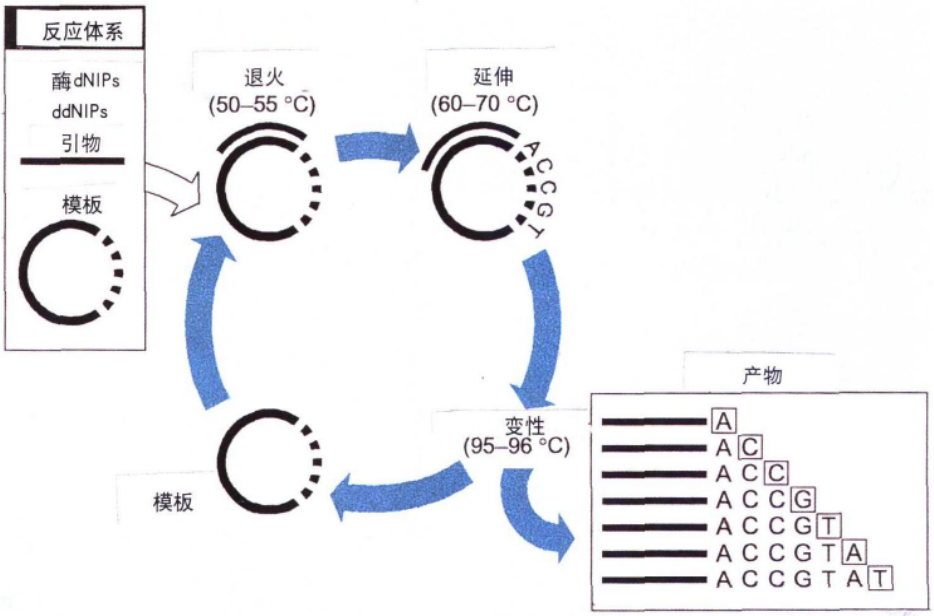


彩图 15–1 荧光测序与放射性同位素测序对比

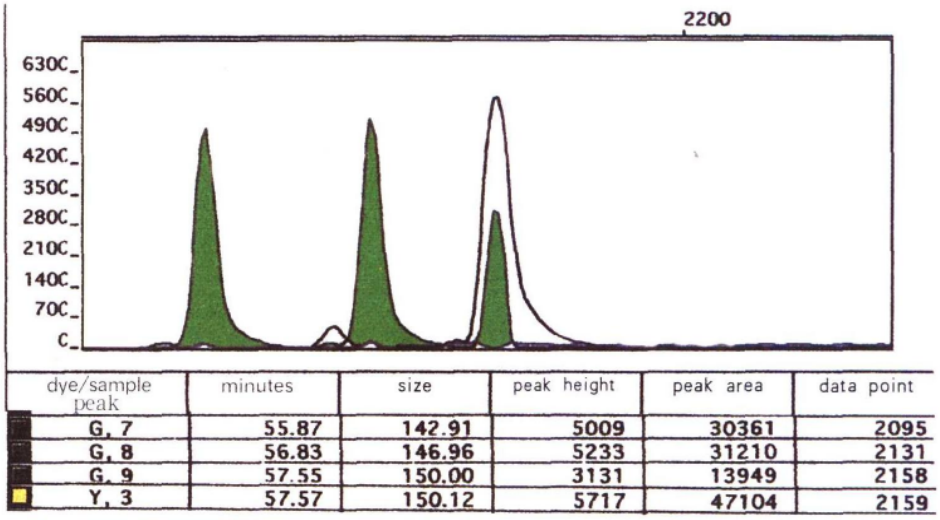
A:荧光测序荧光吸收峰图

B:荧光测序电泳示意图

C:放射性同位素测序电泳示意图



彩图 15–2 循环测序反应

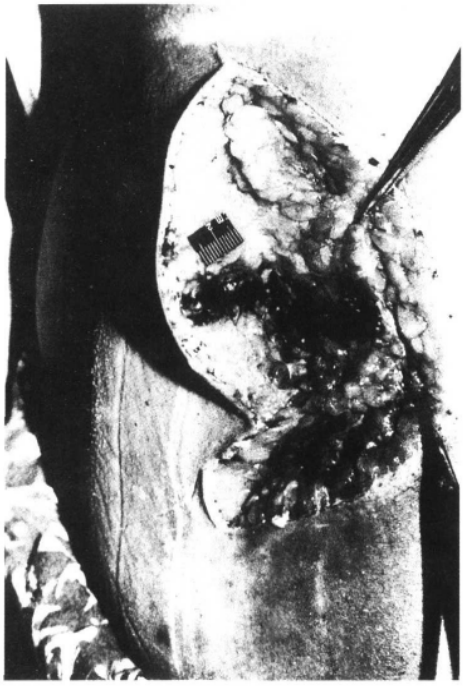


dye/sample peak	minutes	size	peak height	peak area	data point
G, 7	55.87	142.91	5009	30361	2095
G, 8	56.83	146.96	5233	31210	2131
G, 9	57.55	150.00	3131	13949	2158
Y, 3	57.57	150.12	5717	47104	2159

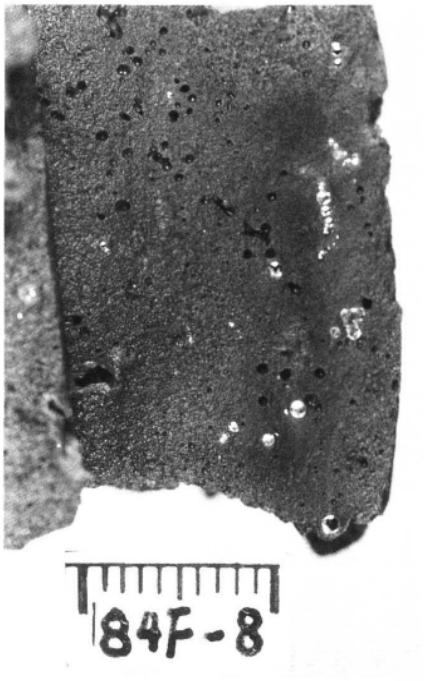
彩图 17–1 拔起峰

vWA 位点在 D5S818 位点的浅（黄）色峰下有一深（绿）色峰，两者的扫描数只相差 1。3 个深（绿）色峰均为 D5S818 位点

Y 轴坐标为峰高(peak height)，X 轴坐标为扫描数。dye/sample peak: 荧光颜色样本峰次序; minutes: 检测到该峰(peak)的时间（分）; size: 长度;peak height: 峰高; peak area: 峰面积; data point: 扫描数

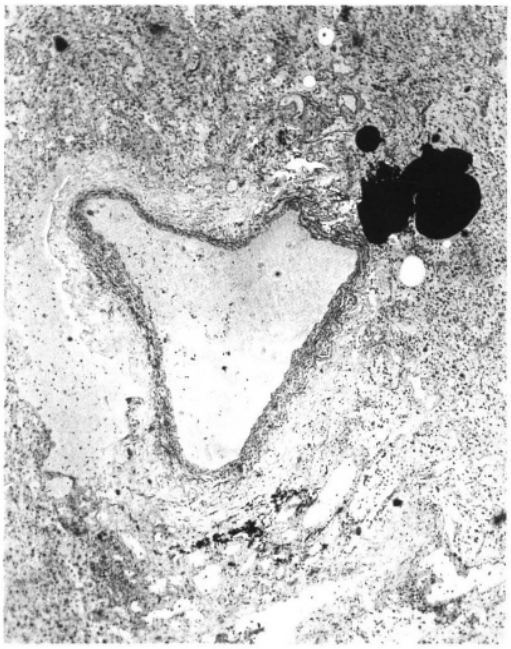


照片图 21–1　示右侧臀部肌注矮壮素杀人致死
（江苏省南通县公安局提供）



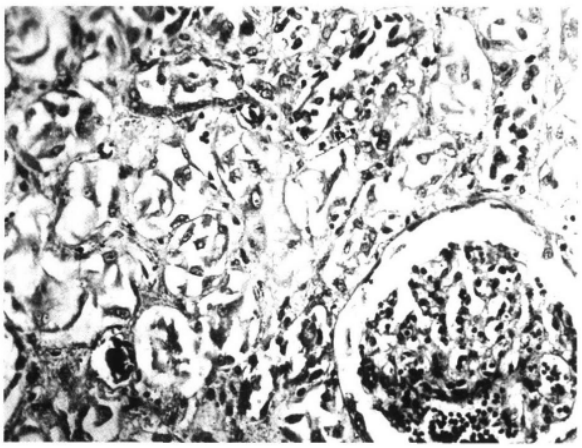
照片图 21–2　水银注射投毒

某女，被其丈夫以治病为名将取自体温表的水银多次静脉注射，导致慢性中毒死亡。图示于肺脏切面上肉眼即可见的多数银白色水银小珠溢出



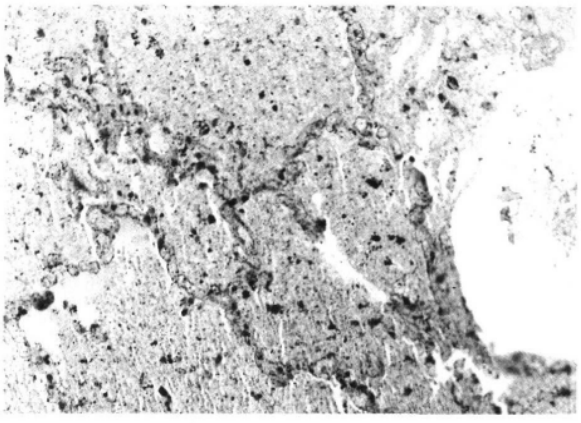
照片图 21–3　与图 21–2 为同一案例（HEx200）

图示肺脏镜下观。可见肺内小动脉轻度扩张、管壁增厚，血管旁见深染呈黑色的水银小珠



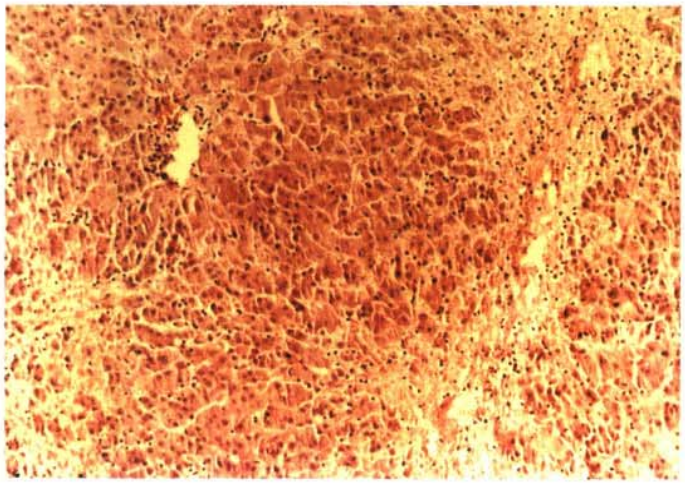
照片图 21–4　铬酸酐阴道塞入投毒（HEx200）

某女被其丈夫从阴道塞入强腐蚀性的铬酸酐而中毒，11 d后死于急性肾衰。图示镜下所见的肾小管上皮细胞广泛变性、坏死，以近曲小管为重。并可见明显的上皮细胞再生，有的已脱落入管腔内。肾小球血管丛基底膜增厚，间质明显充血



照片图 21–5　自服农药甲胺磷急性中毒死者的肺（镜下观，HEx200）

图示肺泡内水肿液中有较多漏出性出血的红细胞。其死因曾被误诊为肺挫伤



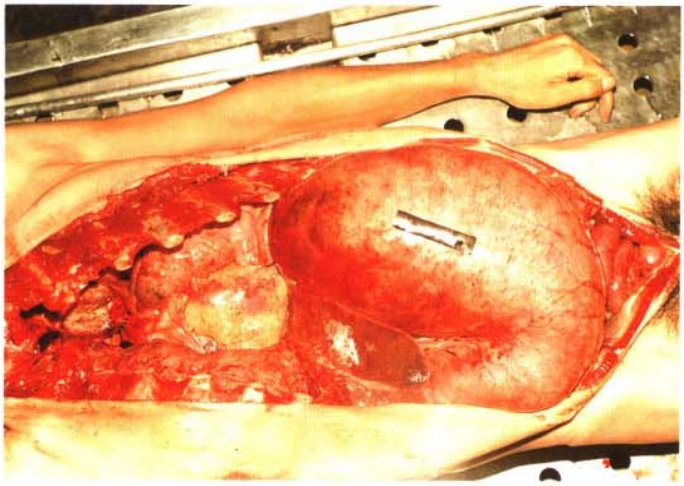
照片图 21–6　医源性中毒（HEx200）

抗结核药物治疗引起的中毒性肝病（镜下观），图示肝细胞带状坏死，间质内以淋巴细胞为主的炎性细胞浸润



照片图 21–7　吸毒并发症——重症病毒性肝炎（镜下观，HEx100）

图右为汇管区，周围大量淋巴细胞浸润，图中其余部分示肝细胞严重坏死，肝小叶结构破坏，弥漫性淋巴细胞浸润



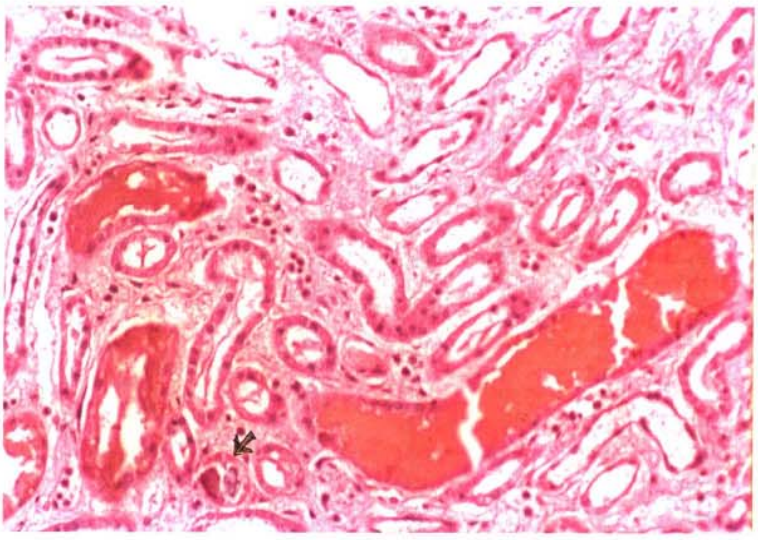
照片图 21–8　戒毒过程中因急性胃扩张而死于急性循环衰竭

图示解剖时可见胃自左上腹延至盆腔内



照片图 21–9　右脚被蝮蛇咬伤中毒死亡

图示死者右脚背内侧皮肤上两处“八”字形蛇咬伤痕（标尺上方），右脚及小腿肿胀、出血，咬伤处皮肤镜检呈急性蜂窝织炎改变伴明显出血



照片图 21–10　与图 21–9 为同一案例（镜下观，HEx225）

图示肾脏髓质镜下所见，可见有较多肾小管内血红蛋白管型形成，呈橘红色粗颗粒状；还可见有的肾小管内有紫蓝色的尿酸盐结晶（箭头指处）。死者被蛇咬伤 3 d 后死于急性肾功能衰竭

目　录

第一章　绪　　论 …… (1)
　第一节　法医学的发展 …… (1)
　　一、新中国成立后我国法医学发展简况 …… (1)
　　二、法医学发展分专业的必然趋势 …… (2)
　第二节　法医学教育的实践性 …… (2)
　　一、本科生教育 …… (2)
　　二、研究生教育 …… (3)
第二章　法医学现场勘验 …… (5)
　第一节　概述 …… (5)
　　一、犯罪现场 …… (5)
　　二、现场勘验 …… (6)
　第二节　杀人案件的现场勘验 …… (9)
　　一、故意杀人案件的基本特点 …… (9)
　　二、故意杀人案件的现场勘验 …… (11)
　　三、侦查杀人案件必须判明的问题 …… (14)
　第三节　无名尸体案件的现场勘验 …… (16)
　　一、无名全尸案件的现场勘验 …… (16)
　　二、无名碎尸案件的现场勘验 …… (17)
　　三、无名尸骨案件的现场勘验 …… (18)
　第四节　爆炸案件的现场勘验 …… (18)
　　一、爆炸案件的特点 …… (18)
　　二、爆炸案件法医学现场勘验 …… (19)
第三章　损伤时间推断研究进展 …… (21)
　第一节　生前伤的诊断 …… (21)
　　一、生前伤诊断的依据 …… (21)
　　二、生前伤诊断领域的难题 …… (22)
　　三、生前伤诊断的研究现状 …… (23)
　第二节　损伤时间的估计 …… (26)
　　一、估计损伤时间的依据 …… (26)
　　二、损伤时间估计的难点 …… (27)
　　三、损伤时间估计研究现状 …… (27)
第四章　早期死亡时间推断新进展 …… (31)
　第一节　概述 …… (31)
　第二节　早期死亡时间推断的方法和技术 …… (32)
　　一、根据尸冷推断死亡时间 …… (32)
　　二、根据肌肉的超生反应推断死亡时间 …… (35)
　　三、根据各种尸体现象综合推断死亡时间 …… (39)
　　四、根据玻璃体液钾离子浓度变化推断
　　死亡时间 …… (39)
　　五、根据 DNA 降解程度推断死亡时间 …… (39)

目　录

六、早期死亡时间推断综合参数法 …… (40)
七、死亡时间推断电子计算机处理的程序 …… (44)
八、国内推断早期死亡时间研究进展 …… (44)
第五章　法庭昆虫学 …… (47)
第一节　绪论 …… (47)
一、法庭昆虫学的定义和内容 …… (47)
二、法庭昆虫学的主要理论依据 …… (47)
三、法庭昆虫学的发展及现状 …… (48)
第二节　昆虫与尸体分解 …… (48)
一、昆虫参与尸体分解及尸体分解阶段的划分 … (48)
二、尸体分解过程中昆虫的演替规律 …… (49)
第三节　具有法医学意义的昆虫 …… (50)
一、与尸体有关的昆虫的类群 …… (50)
二、与尸体有关的重要昆虫形态学及生物学生态学规律 …… (50)
三、具有法医学意义的其他目昆虫及节肢动物 … (65)
第四节　法庭昆虫标本的采集和保存 …… (65)
一、采集工具 …… (65)
二、死亡现场的标本采集 …… (65)
三、处理液 …… (66)
第五节　昆虫数据分析及推断死亡时间的方法 …… (67)
一、昆虫检测的程序 …… (67)
二、根据昆虫推断死亡时间的方法 …… (68)
第六节　昆虫学证据的实际应用 …… (68)
一、死亡时间估计 …… (68)
二、死亡原因分析 …… (69)
三、死亡场所与抛尸场所推断 …… (70)
四、其他 …… (70)
第六章　颅脑损伤研究进展 …… (73)
第一节　颅脑损伤的基础性研究 …… (73)
一、颅骨的生物力学特征 …… (73)
二、颅骨骨折发生的力学特点 …… (74)
三、脑损伤的基础研究 …… (74)
第二节　颅脑损伤的死因鉴定 …… (75)
一、头皮颅骨损伤与脑损伤的不一致性 …… (75)
二、脑损伤形态学改变与脑功能障碍程度的不一致性 …… (75)
三、脑干损伤在死因鉴定中的特殊地位 …… (76)
四、颅脑损伤的并发症与死因鉴定 …… (76)
第三节　外伤性颅内出血 …… (77)

目 录

一、外伤性蛛网膜下隙出血 …… (77)
二、单纯性外伤性硬膜下血肿 …… (77)
第四节 脑损伤 …… (78)
一、脑震荡与弥散性轴索损伤 …… (78)
二、脑挫(裂)伤的类型 …… (79)
三、迟发性外伤性脑内出血 …… (79)
第五节 脑损伤的实验研究 …… (79)
一、动物实验模型的建立 …… (79)
二、研究方法 …… (80)
第七章 道路交通事故的法医学鉴定 …… (83)
第一节 道路交通事故的现场与痕迹调查 …… (83)
一、道路交通事故现场调查 …… (83)
二、交通事故的痕迹发现 …… (85)
第二节 道路交通事故的人体损伤 …… (87)
一、碰撞伤 …… (88)
二、碾压伤 …… (90)
三、砸压伤 …… (92)
四、挤压伤 …… (93)
五、摔伤 …… (93)
六、拖拉伤 …… (94)
七、其他损害 …… (94)
八、驾驶员及乘员损伤 …… (95)
第三节 道路交通事故的物证 …… (98)
一、道路交通事故物证分类 …… (98)
二、物证的发现和提取 …… (98)
第八章 活体损伤鉴定 …… (101)
第一节 损伤的基本类型及损伤的检查 …… (101)
一、机械性损伤的基本类型 …… (101)
二、损伤的反应 …… (102)
三、损伤的检查 …… (103)
第二节 活体损伤鉴定所涉及的问题 …… (103)
一、有无损伤 …… (103)
二、判断损伤类型 …… (104)
三、推定致伤物 …… (104)
四、推定损伤时间 …… (105)
五、分析损伤与疾病的关系 …… (105)
六、评定损伤程度 …… (106)
七、有无功能障碍、残废及其程度问题 …… (107)
八、判定伤害性质 …… (107)
九、是否诈病(伤)、造作病(伤) …… (107)

目 录

十、判定医疗终结时间 …… (108)
第三节 损伤程度鉴定标准探讨 …… (108)
一、损伤程度鉴定的原则 …… (108)
二、皮肤创口(瘢痕)的损伤程度鉴定 …… (109)
三、肢体贯通创(盲管创)创道的鉴定 …… (109)
四、关于头部损伤后脑震荡的鉴定 …… (110)
五、关于眼球部分结构损伤的鉴定 …… (110)
六、关于鼻骨骨折的损伤程度鉴定 …… (110)
七、关于外伤性鼓膜穿孔的鉴定 …… (110)
八、关于听力损伤的鉴定 …… (111)
九、关于牙齿折断或者脱落的损伤程度鉴定 …… (111)
十、关于骨折的损伤程度鉴定 …… (112)
十一、关于外伤性血尿的鉴定 …… (112)
十二、关于颅脑损伤致颅内血肿的鉴定 …… (112)
十三、关于胸部损伤引起血胸或气胸并发呼吸困难的损伤程度鉴定 …… (113)
十四、关于休克的损伤程度鉴定 …… (113)
第九章 杀人碎尸案的法医学鉴定 …… (115)
第一节 杀人碎尸案的特点和现场勘验 …… (115)
一、杀人碎尸案的特点 …… (115)
二、杀人碎尸案现场的法医学勘验 …… (116)
第二节 碎尸块的法医学检验 …… (117)
一、尸块上附着物的发现、提取 …… (117)
二、尸块的同一性检验 …… (118)
三、尸块的个人识别 …… (118)
四、被害者的死因鉴定 …… (118)
五、分尸工具和手法的分析 …… (119)
六、被害人死亡及分尸时间的推断 …… (119)
第三节 罪犯个人特征的分析 …… (120)
第四节 杀人碎尸案的并案分析 …… (120)
一、被害者特征的一致性 …… (121)
二、被害者死因和致死方式的一致性 …… (121)
三、分尸部位和分尸方式的一致性 …… (121)
四、抛尸现场和抛尸方法的一致性 …… (121)
第十章 颅像重合术 …… (123)
第一节 概述 …… (123)
一、颅像重合术发展简史 …… (123)
二、颅像重合术的原理 …… (124)
三、颅像重合术的注意事项 …… (124)
第二节 颅像重合术的步骤与方法 …… (124)

目 录

一、人像审定 …… (124)
二、颅骨准备 …… (127)
三、重合投影 …… (129)
第三节 颅像重合术的结果认定 …… (129)
一、认定标准 …… (129)
二、重合结果的认定 …… (132)
三、颅像重合可信性检验 …… (133)
第十一章 冠心病猝死 …… (135)
第一节 概述 …… (135)
一、冠心病与冠心病猝死的概念 …… (135)
二、冠心病猝死的特点 …… (135)
三、冠心病猝死的诱因和先兆症状 …… (136)
第二节 冠心病猝死时心脏的病理变化 …… (137)
一、冠状动脉的病理变化 …… (137)
二、心肌的病理变化 …… (141)
第三节 冠心病猝死机制 …… (143)
一、心室纤颤 …… (143)
二、急性心肌梗死及其并发症 …… (143)
三、冠状动脉痉挛 …… (143)
四、自主神经系统功能障碍 …… (143)
第四节 早期心肌梗死检查方法的进展 …… (144)
一、大体标本染色法 …… (144)
二、常规 HE 染色 …… (144)
三、特殊组织学染色 …… (145)
四、酶组织化学技术 …… (146)
五、电镜检查技术 …… (146)
六、生物化学技术 …… (147)
七、免疫组织化学技术 …… (148)
八、凋亡检测技术 …… (152)
九、分子生物学技术的应用 …… (153)
十、心肌缺血再灌注损伤 …… (153)
第五节 冠心病猝死的法医学鉴定 …… (154)
一、尸检注意事项 …… (154)
二、冠心病猝死的鉴定要点及其注意事项 …… (156)
第十二章 心脏传导系统增龄变化、病变与猝死 …… (161)
第一节 概述 …… (161)
一、心脏传导系统研究简史 …… (161)
二、心脏传导系统的形态学特征 …… (161)
三、心脏传导系统(CCS)的取材方法 …… (163)
第二节 心脏传导系统的增龄性变化 …… (164)

一、SAN 形态学改变与年龄变化的关系 …… (164)
二、AVN、HB 形态学改变与年龄变化的关系 …… (165)
第三节 心脏传导系统病理变化与猝死的关系 … (165)
一、影响心脏传导系统的出血 …… (166)
二、影响心脏传导系统的炎症 …… (166)
三、心脏传导系统脂肪浸润 …… (167)
四、心脏传导系统纤维化 …… (167)
五、心脏传导系统神经病 …… (168)
六、心脏传导系统肿瘤 …… (168)
七、心脏传导系统发育异常 …… (169)
八、其他 …… (170)
附录:心脏传导系统新型染色法 …… (170)
第十三章 急性出血坏死性胰腺炎与胰腺出血 …… (173)
第一节 急性出血坏死性胰腺炎 …… (173)
一、概念 …… (173)
二、病因和发病机制 …… (174)
三、病理变化 …… (176)
四、临床表现 …… (177)
五、预后 …… (178)
第二节 胰腺出血 …… (179)
一、概念 …… (179)
二、病因和发病机制 …… (179)
三、死后自溶与胰腺出血 …… (180)
四、胰腺出血的病理变化 …… (180)
第三节 胰腺出血、急性出血坏死性胰腺炎与猝死 …… (180)
一、胰腺出血与猝死 …… (180)
二、急性出血坏死性胰腺炎与猝死 …… (181)
第十四章 医疗纠纷与医疗事故 …… (185)
第一节 医疗纠纷与医疗事故的概念 …… (185)
一、医疗纠纷的概念 …… (185)
二、医疗事故的概念 …… (186)
第二节 医疗纠纷的类型 …… (187)
一、医疗纠纷与医疗事故的类型 …… (187)
二、医疗事故的分级 …… (194)
第三节 医疗纠纷的处理和鉴定 …… (196)
一、医疗纠纷的处理程序 …… (196)
二、法医在医疗纠纷处理中的作用和地位 …… (198)
三、尸检在涉及死亡的医疗纠纷处理中的作用 …… (199)

目 录

第四节 医疗纠纷各种责任的确定 …… (200)
一、医疗纠纷民事责任的确定 …… (200)
二、医疗纠纷行政责任的确定 …… (200)
三、医疗纠纷中的刑事责任 …… (201)
第五节 非法行医 …… (203)
一、概述 …… (203)
二、非法行医罪的概念及其所负的责任 …… (204)
三、因非法行医导致的诉讼 …… (204)
第十五章 DNA 分析技术及其应用 …… (207)
第一节 DNA 的特性 …… (207)
一、DNA 是具有个体特异性的遗传物质 …… (208)
二、人类 DNA 存在于细胞的染色体和线粒体 2 个部分 …… (208)
三、遗传物质稳定传递的相对性和变异的绝对性是矛盾的统一 …… (208)
第二节 DNA 多态性标记的特点 …… (209)
一、DNA 多态性的分类 …… (209)
二、DNA 多态性标记的特点 …… (210)
第三节 STR 多态性 …… (211)
一、STR 分型 …… (211)
二、STR 分型结果的判断 …… (212)
三、STR 位点 DNA 组成的民族差异 …… (215)
四、STR 系统的变异现象 …… (216)
第四节 DNA 指纹 …… (219)
第五节 人类线粒体 DNA 多态性 …… (221)
一、线粒体 DNA 概述 …… (221)
二、线粒体 DNA 多态性 …… (222)
三、线粒体 DNA 多态性检测方法 …… (223)
四、线粒体 DNA 多态性分析的应用 …… (226)
第六节 单核苷酸多态性(SNPs)及其检测技术 … (235)
一、概述 …… (235)
二、SNPs 检测方法 …… (236)
三、SNPs 主要应用领域 …… (244)
四、研究进展和存在的问题 …… (245)
第七节 DNA 多态性分析的法医学应用 …… (247)
一、种属鉴定 …… (247)
二、性别鉴定 …… (247)
三、个人认定 …… (248)
四、亲子鉴定 …… (248)
第八节 DNA 多态性分析在其他方面的应用 …… (249)

一、疾病诊断 …… (249)
二、产前、受精卵种植前基因诊断 …… (250)
三、疾病相关性分析 …… (251)
四、双生子分析 …… (251)
五、器官移植、骨髓移植 …… (251)
六、细菌及病毒种属和株的鉴定 …… (251)
七、确定细胞株的特性 …… (251)
八、人类学的应用 …… (251)
第十六章 法医检案的特殊技术 …… (257)
第一节 微量检材的全基因组 DNA 扩增 …… (257)
一、散在重复序列 - PCR 技术 …… (257)
二、接头 - 转换器 - PCR 方法 …… (259)
三、简并性寡核苷酸引物 - PCR 技术 …… (261)
四、引物延伸预扩增 - PCR 技术 …… (263)
五、标签随机引物 - PCR 技术 …… (264)
第二节 特殊的 DNA 提取技术 …… (265)
一、Luminol 处理过的血痕 DNA 抽提 …… (265)
二、碱裂解法抽提 DNA …… (266)
第十七章 混合生物检材的个体识别 …… (269)
第一节 概述 …… (269)
第二节 混合生物检材的提取 …… (269)
第三节 混合生物检材的确证 …… (270)
第四节 精液与阴道液混合斑的确证 …… (270)
第五节 混合斑的血型检验 …… (270)
第六节 混合生物检材的 DNA 检验 …… (271)
一、精子 DNA 的提取 …… (271)
二、混合斑 DNA 的纯化和浓缩 …… (272)
三、DNA 的定量 …… (272)
四、PCR 条件的优化 …… (272)
五、电泳和分型 …… (272)
第七节 混合斑 DNA 检验结果的分析 …… (273)
一、影响混合斑 DNA 分型结果的因素 …… (273)
二、混合斑常染色体 DNA 的检验结果分析 …… (274)
三、影响混合斑 DNA 检验结果分析的因素 …… (276)
第八节 Y 染色体 DNA 多态性分析技术在混合斑检测中的应用 …… (278)
一、Y 染色体 STR 的优越性 …… (278)
二、注意事项 …… (279)
第十八章 亲子鉴定和血缘关系鉴定进展 …… (283)
一、概念及历史 …… (283)

二、亲子鉴定的分类 …… (283)
三、鉴定技术 …… (284)
四、判断标准 …… (284)
五、概率的计算 …… (285)
六、鉴定结论 …… (286)
七、注意事项 …… (286)
第十九章 生物统计学在法医学上的应用 …… (289)
第一节 群体遗传学相关概念 …… (289)
一、等位基因频率 …… (289)
二、Hardy－Weinberg 平衡检验 …… (289)
三、Hardy－Weinberg 不平衡检验 …… (294)
四、位点间相关性分析 …… (294)
五、群体间比较 …… (295)
第二节 法医 DNA 数据中常用的参数 …… (296)
一、等位基因和单倍型频率(直接计数法) …… (296)
二、基因多样性或杂合度 …… (296)
三、突变率 …… (296)
四、偶合率 …… (297)
五、个人识别力 …… (297)
六、平均非父排除率 …… (298)
第三节 法医 DNA 分型结果的应用统计分析 …… (300)
一、应用于个人识别 …… (300)
二、应用于亲权鉴定 …… (302)
第二十章 生物芯片技术与法医学应用 …… (309)
第一节 概论 …… (309)
一、生物芯片发展简介 …… (309)
二、生物芯片的概念与分类 …… (310)
第二节 生物芯片技术 …… (311)
一、生物芯片的制备 …… (311)
二、待测样品的制备 …… (315)
三、芯片信号的检测 …… (316)
第三节 生物芯片的应用和法医学 …… (318)
一、核酸序列测定、突变检测和多态性检测 …… (318)
二、基因差异表达和肿瘤发生机制研究及基因诊断 …… (319)
三、法医学应用 …… (320)
四、其他方面 …… (322)
第四节 几种新型生物芯片 …… (323)
一、流过式芯片 …… (323)
二、生物传感器 …… (323)

三、电子芯片 …… (324)
四、细胞分离及核酸分析集成芯片 …… (325)
五、珠光芯片 …… (325)
六、组织微阵列 …… (326)
第五节 存在的问题 …… (326)
一、芯片的制作工艺 …… (326)
二、探针设计及杂交程序设计 …… (326)
三、杂交信号的检测及有关的仪器和软件 …… (327)
第六节 展望 …… (328)
第二十一章 中国中毒案件的特色 …… (333)
第一节 中国中毒案件发生原因和方式的特点 … (333)
一、中毒发生的原因和方式的特点 …… (334)
二、他杀投毒方式的特点 …… (334)
三、自杀中毒方式的特点 …… (335)
四、意外中毒方式的特点 …… (336)
第二节 中国法医学常见毒物种类特点 …… (337)
一、毒物种类的变化 …… (337)
二、农药中毒 …… (338)
三、杀鼠剂中毒 …… (338)
四、有毒动植物中毒 …… (339)
五、中国毒品种类的特点 …… (339)
第二十二章 精神疾病与暴力行为 …… (343)
第一节 流行病学调查 …… (343)
一、精神病患者暴力行为的发生率 …… (343)
二、有暴力行为的精神障碍种类 …… (344)
第二节 精神病暴力行为的特征 …… (345)
一、一般人口学情况 …… (345)
二、作案动机 …… (345)
三、作案方式 …… (347)
四、受害者特征 …… (347)
第三节 发生机制 …… (347)
一、精神病理 …… (347)
二、人格特质 …… (349)
三、生物学基础 …… (349)
四、环境因素 …… (351)
第四节 精神病暴力行为的预测与预防 …… (352)
一、预测 …… (352)
二、预防 …… (355)
第五节 精神病患者暴力行为的刑事责任能力 … (356)
一、概念 …… (356)

二、评定标准 …… (356)
三、历史和现状 …… (357)
第六节 暴力行为的司法精神病鉴定 …… (358)
一、鉴定前 …… (359)
二、鉴定中 …… (359)
三、鉴定后 …… (360)
第二十三章 法医人类学活体的年龄推断 …… (363)
第一节 概述 …… (363)
第二节 根据骨龄推断活体年龄 …… (364)
一、根据继发骨化中心推断活体年龄 …… (364)
二、根据干骺愈合推断活体年龄 …… (364)
三、X射线照片在推断活体年龄时的应用 …… (369)
第三节 根据牙齿推断活体年龄 …… (372)
一、根据乳、恒牙的萌出与替换推断活体年龄 … (373)
二、根据整颌牙的磨耗度推断活体年龄 …… (374)
第四节 根据身高和骨骼长度推断活体年龄 …… (384)
一、根据身高推断活体年龄 …… (384)
二、根据骨骼长度推断活体年龄 …… (384)
附录 …… (387)
附录一 美国DNA顾问委员会(DNA Advisory Board,DAB) …… (387)
附录二 建立中国司法鉴定DNA实验室管理条例的建议 …… (389)
附录三 建立中国亲子鉴定判断标准的建议 …… (390)
附录四 建立亲子鉴定DNA实验室管理条例的建议 …… (391)
附录五 罪犯DNA数据库的实验室质量保证标准 …… (392)
附录六 中山医科大学法医物证教研室19个STR位点等位基因资料 …… (397)
附录七 等位基因分型用阶梯的制备 …… (401)
附录八 美国几种人群部分STR位点的等位基因频率 …… (401)

目 录

第一章 绪 论

伍新尧

第一节 法医学的发展

一、新中国成立后我国法医学发展简况

从世界公认的最早、最系统的由南宋提刑宋慈编撰的法医学著作《洗冤集录》于1247年问世至今，已有700多年的历史。此后各国出现了许多著名的法医学者，出版了许多法医学专著和杂志，建立了法医学鉴定体系，对各国的司法鉴定工作起了十分重要的促进作用。

1979年7月，我国颁布了《中华人民共和国刑法》和《中华人民共和国刑事诉讼法》，同年9月，卫生部重新颁布试行《解剖尸体规则》。我国重新恢复了法医鉴定体系。1979年开始，卫生部指定中山医学院、四川医学院、中国医科大学招收法医本科学生和硕士研究生。以后，在上海、同济、西安医科大学，山西、昆明、皖南医学院和洛阳医专也设置了法医专业。此外，在中国刑事警察学院和其他一些政法大学也相继培养法医专业学生。

1979年12月在西安召开了我国第一届法医学术交流会，1980年出版了郭景元主编的《实用法医学》，1985年创刊《法医学杂志》，1986年创刊《中国法医学杂志》。

1985年由国家教委确定将"全国法医学专业教学教材工作协作组"更名为"全国法医学专业教育指导委员会"，李福海担任第一任主任，并确定编写出版8种法医学专业教材。

在我国从事司法鉴定（包括法医学）研究和鉴定工作的专门机构主要是公安部第二研究所（北京）、司法部司法鉴定科学技术研究所和部分高等医学院校的法医学系或法医学院。改革开放以后，我国已有十多所高等院校在培养法医专业人才，法医学专业教育已经具备本科生、研究生、博士生3个层次，一些学校还设立博士后流动站。目前我国在公、检、法系统都配备了专职法医，在高等医学院校都开设了公共的法医学课程，法医学工作者队伍逐渐发展壮大。

二、法医学发展分专业的必然趋势

随着我国法制的逐步建立和健全，人民法治意识的增强，证据的作用日益被各界人士认识和重视，对法医工作也提出更高的要求。过去由于人员奇缺，往往要求法医工作者要对许多不同类型的案件作出鉴定，提供证据，这些包括死因鉴定、伤残评定、物证鉴定、甚至司法精神病鉴定。但是这些鉴定工作的学科跨度非常之大，要求的知识面非常之广，很难想像每一个法医都能作好上述几个不同学科的鉴定工作。例如：在做死因鉴定时，往往会遇到轻度的外伤导致伤者突然死亡，需要鉴定其死因以及外伤在导致死亡事件中所起的作用，这时单纯通过尸体外表观察，难以确定其真正死因，必须进行系统、详细的尸体解剖，还要进行认真的病理组织学检查。此类案件要求检案的法医工作者必须有深厚的法医病理学知识和普通病理学的基础，并要有相当的经验，善于鉴别潜在疾病在此类致死案件中所起的作用；又如，现场微量血迹的个人认定，除了要有熟练的分子生物学技术以外，还要懂得一套法医 DNA 分析时的注意事项，以及会利用统计学知识计算各种概率，最后作出判断。上述 2 种类型的案件，如果发生在较为偏远的山区，该地区往往只有 1～2 名法医，要求他们都能很完满地解决上述 2 种类型的案件，显然是不现实的。但是，这些难度较高的案件往往又多是影响较大的。因而他们需要懂得对这些案件的基本处理知识和技术，进行现场勘验、提取物证，送给条件较好的、规模较大的法医学鉴定机构，进行鉴定或请这些机构中经验丰富者下来会诊、指导，最终使这些疑难案件得到圆满解决。

目前，在我国省市一级的法医学鉴定机构中，在高等医学院校的法医鉴定机构中，都已经按照学科的发展和实践需要，形成了具有各自完整体系的许多分支学科，分设了法医病理室、法医物证室、法医毒物分析室、法医临床和司法精神病鉴定室等。这几个分支学科都有各自的基础理论和基本技术，分析案件的思路也是各不相同的。经过几十年来的发展，各自工作的特殊性更加突出，不同的分支学科都有许多法医学者和他们的研究生在不断地探索，取得了许多可喜的新成果，有许多新发现，大大地丰富了这些学科的内容。为了提高法医学鉴定的质量和水平，应该鼓励和扶持法医学各分支学科积极发展本分支学科的专长和特色。只有这样才能更好地适应社会主义法制建设的需要，提高法医队伍的整体水平。

但是，就目前我国的国情而言，一个工作于第一线的法医若能擅长于一个法医学分支学科，兼顾懂得另一些分支学科的基本知识，对其做好法医工作无疑会起到十分有利的促进作用。

随着我国社会经济体制改革的深入发展，司法制度引进了“沉默权”，这实际上是我国司法制度改革从“有罪假定”向“无罪假定”过渡的一个飞跃。证据在司法审判中起到至关重要的作用。在这样的社会环境下，为法医学的发展提供了良好的机遇，同时，也对法医学工作提出了更高的要求。

第二节　法医学教育的实践性

一、本科生教育

自从 1979 年我国正式招收大学本科法医专业学生以来，至今已有 20 多年历史，为我国培养了一大批法医工作者，他们现在都已成了许多公、检、法部门或高等医学院校法医学检案、教学、科研的骨干力量。回顾这一段历史，总结经验，发扬优点，对于进一步办好法医学教育很有价值。

法医学是应用性很强的学科，法医学各分支学科的水平高低，无一例外地都要接受办案实践的检验。因此在法医学各分支学科的教学中，始终应该贯彻这一指导思想。那种把法医学当做基础医学来看待的思路显然是不切实际的。在安排法医学各分支学科的教学内容和时间上，同样要考虑到目前和将来我国对法医人才的需求情况和法医学检案的实际需要。此外，在本科学生大学期间的训练也必须紧密结合法医学实践性突出的特点，除了要加强医学基础课程的教学、加强综合素质的培养外，要突出

法医检案基本程序和科学思维能力的训练。中山医科大学法医学本科教学改革，就在这些方面做了一些有益的尝试。如要求法医病理学教师每年有一定的时间深入到公安局法医室去实实在在担任法医工作，在提高法医学教师理论水平的同时，提高法医学教师实际办案的能力，注意加强公安法医工作为侦查破案提供线索和证据的意识和技能；有丰富实际经验又有较扎实基础理论的工作在法医检案第一线的兼职教师到学校给法医班学生讲课制度化；要求法医班三年级及更低年级学生到公安局进行刑事侦查技术的见习；加强毕业生实习基地的建设，提高实习基地兼职教师的带教水平；延长毕业实习生在公、检、法法医室的实习时间，规范实习基地的管理，对实习生的要求和考核的制度化等措施，对提高法医本科学生的综合素质起了明显的促进作用。

二、研究生教育

法医学研究生教育，对提高我国法医学整体水平起着积极的推动作用。为了进一步提高研究生教育的效果和质量，同样要突出法医学的实践性。研究生毕业以后将是我国法医学界中较高层次的人才，往往会在较为重要的工作岗位，承担起影响较大的工作任务，需要他们去解决难度较大的案件；也希望他们对我国法医学事业的发展，包括建立适合我国国情、高效高质量的法医学鉴定体制，促进法医学科研为办案服务方面起到较大的作用，并能提出具有明显创新意义的思路。但是他们必须首先会解决法医学实践中较难的问题。为了适应上述需要，法医学研究生同样首先必须接触法医实践，了解我国的法医现状，熟悉国内外有关方面的新进展。其次研究生的研究课题必须围绕如何满足法医办案的需要，提高法医办案水平，如何解决法医实践中的难点来考虑立题。鉴于上述考虑，中山医科大学法医学系要求研究生要有一定的时间参加实际检案，并从实践中提出科研设想。

目前，我国的现状是法医学工作者的人数有限，而且还比较分散，特别是在地县级单位的法医学工作者人数较少，工作任务繁重。学科的发展又不可能要求他们成为"全才"，但现实生活中常常遇到需要用不同的法医学分支学科的专门知识和技术才能解决的问题。因此要求我国的法医学教育仍然有必要照顾上述国情，在教学内容安排上兼顾各分支学科，让学生对法医学各分支学科有一个较为全面的了解。对法医学研究生的要求更是如此。尽管法医学研究生入学时已经选择了不同的分支学科，但是在他们结束研究生阶段学习，进入工作以后，同样会遇到需要用不同法医学分支学科的知识和技术来处理案件的情况。因此，有必要创造条件给这些研究生更好的学习机会。这也是使他们成为一个"合格的法医"的必要条件。编写《高级法医学》这本书的初衷正是如此。

第二章 法医学现场勘验

■ 胡丙杰 黄奕才 程海鹰

第一节 概述

一、犯罪现场

(一)犯罪现场

1. 犯罪现场的概念 犯罪现场是指犯罪分子作案的地点和遗留有与犯罪有关的痕迹、物品的一切场所。犯罪分子作案的地点,即犯罪分子实施犯罪的地点或案件发生的地点,如杀人案件的杀人地点,投毒案件的投毒地点等。遗留有与犯罪有关的痕迹、物品的一切场所,是指除了犯罪分子作案地点以外的一切遗留有与犯罪有关的痕迹、物品的场所,如犯罪分子准备作案的场所,作案后隐藏处理赃款赃物、丢弃作案工具、处理其他罪证的场所,作案后肢解尸体、刨埋尸体的场所等。

2. 犯罪现场的分类 犯罪现场可从不同角度作如下分类。

(1)根据案件的种类划分 分为杀人案现场、强奸案现场、投毒案现场、爆炸案现场、纵火案现场等。

(2)根据现场所处环境划分 分为室内现场、露天现场。

(3)根据现场有无变动划分 分为原始现场、变动现场。

1)原始现场 是指案发后现场原始状态没有遭到改变和破坏的犯罪现场。这种现场保持了犯罪分子作案时的原貌,能真实、客观地反映犯罪分子实施犯罪的动机、目的,作案的方法、手段和作案过程等。

2)变动现场 是指犯罪现场形成后,由于自然的或人为的原因,使现场的原始状态受到部分或全部改变和破坏的现场。在侦查实践中,多见变动现场,这种现场给勘验带来种种不利,需要更加认真细致地进行勘验。

有些犯罪分子在作案后为了逃避打击,转移侦查视线,对现场加以伪装和破坏,称为伪装现场。把

杀人现场伪造成疾病死亡、自杀或意外死亡现场，是犯罪分子用于蒙混过关、逃避刑罚的一种常见方法。据庄明清统计，北京地区1955～1984年间检验的1 831起杀人案中，伪装自杀、病死和意外事故者129例，占7%。这类案件极其隐蔽，具有欺诈性，有时难于发现，危害性较大。因此在法医学现场勘查和尸体检验工作中必须保持高度警惕。

(4)根据现场所处地位划分　分为中心现场和外围现场。

1)中心现场　又称为主体现场，是指犯罪分子实施犯罪活动的主要场所，往往遗留痕迹、物品多而集中，是现场勘查的重点。

2)外围现场　又称为关联现场，是指中心现场以外的一切与犯罪行为有关的场所。

(5)根据事实真伪划分　分为真案现场和假案现场。

1)真案现场　是指确实存在犯罪行为的犯罪现场。

2)假案现场　是指现场上并未发生及存在犯罪行为，而是当事人为了某种动机和目的，无中生有，虚构情节，谎报案情，故意设置的"犯罪现场"。

(6)根据现场形成的先后顺序划分　分为第一、第二、第三现场等。

3. 犯罪现场的保护　我国《刑事诉讼法》第一百零二条规定："任何单位和个人，都有义务保护犯罪现场，并且立即通知公安机关派员勘验。"

(二)现场勘查

1. 现场勘查的概念　现场勘查是指侦查人员为了查明事件性质和犯罪事实，收集犯罪证据，依法对犯罪现场及有关人员进行勘验检查和调查访问的一项侦查活动。

现场勘查的内容主要包括实地勘查(即现场勘验)和现场访问2个方面。

2. 现场勘查的任务　现场勘查要及时、全面、细致、客观，其主要任务是：①初步判断案件的性质：发生事件的性质包括以下几种情况，一是犯罪案件，二是自杀案件，三是意外事件，四是伪造案件；②查明犯罪分子的犯罪活动情况：案发地点和时间、嫌疑人人数、嫌疑人特征、作案方法和手段、作案工具、作案过程等；③收集犯罪嫌疑人遗留的痕迹、物品；④进行现场记录；⑤确定侦查方向，划定侦查范围。

二、现场勘验

(一)现场勘验的概念及意义

现场勘验是指侦查人员依法运用科学技术手段，对犯罪现场中的与犯罪有关的尸体、痕迹和物品等进行发现、观察、提取、检验、记录和分析，以确定其产生、发展和变化的原因以及与犯罪行为的关系的一项专门工作。

法医学现场勘验具有十分重要的意义。许多案件离开现场勘验，单凭尸体检验并不能认定死亡的性质。例如溺水、高坠、缢死、电击和某些损伤引起的死亡，对其死亡性质的认定，在很大程度上要依赖现场勘验。如1995年2月的一个晚上，从某县一银行男职员郭某客厅中传出一女子哭泣声。邻居敲开房门后发现郭某躺在客厅地面血泊中，屋内还有一名陌生女子，遂向公安机关报案。法医等刑侦技术人员赶到现场时，该陌生女子已逃离。经现场勘验，客厅摆设零乱，遍地血迹，客厅通往厨房的玻璃门破碎。法医检验结果：郭某死因明确，其颈前部沿下颌下缘有一长达28 cm的锐器切割创口，颈部肌肉、大血管、甲状腺、气管、食管均破裂，显然系刎颈失血性休克死亡。一般就刎颈而言，多见于自杀，亦可见于他杀，罕见于意外。如果是自杀，死者无动机，尤其是颈部致命创口的深度和破坏程度是自我力量难以达到的。况且现场也无自杀利器遗留。如属他杀，有支持点，也有可疑点。支持点是现场的陌生女子，事发后该女子又逃离，死者创口他杀可以形成，杀手完全可以将凶器带离现场。而最大的疑点则是若该女子为凶手，何故案发后不悄然逃逸，而要哭泣惊动四邻。如属意外，则必须找到造成意外的原因和客体。于是对破碎的厨房玻璃拉门进行反复勘验研究。该拉门为铝合金框，对开启闭，高1.9 m，宽

1.5 m，其左扇门玻璃大部分碎裂断落，仅余下 20 cm 不规则碎片。碎玻璃绝大部分落在厨房内一侧，并留有大量喷溅流注状血迹。一个铝质面盆，位于该碎玻璃上面。经反复研究，最后推定：该破碎的玻璃拉门处应为刎颈的第一现场，从玻璃破裂、碎片分布和喷溅流注状血迹的分布来看，死者系持盆由客厅走向厨房时，因脚下打滑，前倾冲跌，撞碎玻璃门，形成一锋利的玻璃断面，而死者因惯性继续前扑，颈前部架在该断面上，由体重和下冲的速度造成颈部深度切割直达颈椎，致急性失血性休克死亡。此例若仅靠尸体检验查看损伤特征，恐难得出正确的结论，由此可见法医学现场勘验的重要性。

（二）现场勘验的法律规定

现场勘验中，法医必须严格按照我国《刑事诉讼法》和《公安机关办理刑事案件程序规定》中有关规定进行。

1.《刑事诉讼法》中有关规定

（1）第一百零一条　侦查人员对于与犯罪有关的场所、物品、人身、尸体应当进行勘验或者检查。在必要的时候，可以指派或者聘请具有专门知识的人，在侦查人员的主持下进行勘验、检查。

（2）第一百零三条　侦查人员执行勘验、检查，必须持有人民检察院或者公安机关的证明文件。

（3）第一百零四条　对于死因不明的尸体，公安机关有权决定解剖，并且通知死者家属到场。

（4）第一百零五条　为了确定被害人、犯罪嫌疑人的某些特征、伤害情况或者生理状态，可以对人身进行检查。

犯罪嫌疑人如果拒绝检查，侦查人员认为必要的时候，可以强制检查。

检查妇女的身体，应当由女工作人员或者医师进行。

（5）第一百零七条　人民检察院审查案件的时候，对公安机关的勘验、检查，认为需要复验或者复查时，可以要求公安机关复验、复查，并且可以派检察人员参加。

2.《公安机关办理刑事案件程序规定》中的有关规定

（1）第一百九十三条　侦查人员对于与犯罪有关的场所、物品、人身、尸体都应当进行勘验或者检查，利用各种技术手段，及时提取与案件有关的痕迹、物证。在必要的时候，可以指派或者聘请具有专门知识的人，在侦查人员的主持下进行勘验、检查。

（2）第一百九十四条　执行勘查的侦查人员接到通知后，应当立即赶到现场；勘查现场，应当持有《刑事犯罪现场勘查证》。

（3）第一百九十六条　现场勘查，由县级以上公安机关侦查部门负责。

一般案件的现场勘查，由侦查部门负责人指定的人员现场指挥；重大、特大案件的现场勘查由侦查部门负责人现场指挥。必要时，发案地公安机关负责人应当亲自到现场指挥。

（4）第一百九十七条　勘查现场，应当按照现场勘查规则的要求拍摄现场照片、制作《现场勘查笔录》和现场图。对重大、特大案件的现场应当录像。

（5）第一百九十八条　为了确定被害人、犯罪嫌疑人的某些特征、伤害情况或者生理状态，可以对人身进行检查。

犯罪嫌疑人如果拒绝检查，侦查人员认为必要时，可以强制检查。

检查妇女的身体，应当由女侦查员或者医师进行。

检查的情况应当制作笔录，由参加检查的侦查人员、检查人员和见证人签名或者盖章。

（6）第一百九十九条　为了确定死因，经县级以上公安机关负责人批准，可以解剖尸体或者开棺检验，并且通知家属到场，并让其在《解剖尸体通知书》上签名或者盖章。

死者家属无正当理由拒不到场或者拒绝签名、盖章的，不影响解剖或者开棺检验，但是应当在《解剖尸体通知书》上注明。对于身份不明的尸体，无法通知死者家属的应当在笔录中注明。

（7）第二百条　对于已查明死因，没有继续保存必要的尸体，应当通知家属领回处理；对无法通知或者通知后家属拒绝领回的，经县级以上公安机关负责人批准，可以及时处理。

(8)第二百零一条　对人民检察院要求复验、复查的，公安机关应当及时复验、复查，并通知人民检察院派员参加。

(三)现场勘验的内容

犯罪现场的种类不同，其勘验的内容也有所不同。通常情况下，现场勘验涉及现场痕迹勘验、现场尸体勘验、现场法医物证勘验、现场活体检验、现场文书勘验、现场物品勘验等方面内容。其中法医学现场勘验的内容有以下几项。

1. 现场尸体勘验　主要查明尸体在现场中的位置、方向、姿势，尸体与周围痕迹和物品的关系；死者的着装情况，携带物品情况以及尸体和衣着表面的附着物情况；尸体现象和尸体外表生前的特征；尸体外部损伤的种类、形状、分布和严重程度；死亡时间、死亡过程和致死的原因；他杀、自杀还是意外伤亡事故；如果是碎尸，应查明碎尸时间、碎尸手段、方法、工具，无名者还应判断其年龄、身高、性别等，为其个人识别提供线索。

2. 现场法医物证勘验　主要是杀人、强奸、投毒、放火、爆炸或其他刑事案件现场中遗留的血迹、毛发、骨骼、皮肤、肌肉、乳汁、尿液、呕吐物、唾液、精斑等人体组织和人体排泄物、分泌物的勘验。查明所发现的法医物证在现场中的位置、形状、种属、数量和载体情况；这些物证在现场中与尸体和周围物品的关系；以及说明这些物证遗留的新鲜程度，在什么情况下遗留的，与犯罪有什么关系等，并提取这些物证进行检验鉴定。

3. 现场活体检验　是指对与案件有关的被害事主或犯罪嫌疑人的人身检验。主要检查其外伤、衣着、指甲缝和身体上残留的外来物质等。

(四)法医学现场勘验步骤

法医学现场勘验是一项细致而复杂的工作，为了避免勘验工作中出现遗漏或重复劳动，提高勘验质量，必须在勘验指挥人员的统一指挥下，按照勘验步骤有条不紊地逐步进行。法医学现场勘验的步骤主要分为观察现场、初步勘验和详细勘验3个步骤。

1. 观察现场　指法医在勘验前对现场外围、对实施犯罪地点及其周围环境所进行的有关法医学物证的全面观察。

2. 初步勘验　也称静态勘验，是指在不改变现场原貌、不触动现场物体的情况下所进行的勘验工作。

法医进入现场后，对于已发现的法医学痕迹、物品及尸体、人体分泌、排泄物不做任何的触摸或移动，而是发现一处标记一处，即做出明显的保护标志，防止受到破坏或变动。静止状态下的观察、研究和分析，主要应解决以下问题：①确定现场的入口和出口；②确定勘验人员的出入通道；③进行现场照相和录像；④发现、固定明显的痕迹和物品；⑤注意发现反常情况。

3. 详细勘验　也称动态勘验，是指在初步勘验的基础上对现场的痕迹、物品进行逐一的检查，发现、研究、记录和提取的工作过程。

前一阶段工作是宏观的，这一阶段工作则是微观的。这时不仅可以对现场有关法医学痕迹和物品进行触摸、碰动，而且可以翻转、移动，进行仔细观察和反复查看。在整个勘验过程中必须突出“详细”两字，只有这样才能全面、深入地掌握现场的情况。主要应做以下工作。

(1)仔细观察现场势态　以期对勘查的总体形势和状态有一个总的印象。如尸体所处位置、血迹分布及性状；犯罪嫌疑人触动了哪些物品、破坏了哪些部位；哪些部位提取的痕迹即刻可确定为犯罪嫌疑人所留。

(2)认真发现法医学物证　详细勘验时要利用各种技术手段对现场的各个部位，每件物品进行仔细的勘验。将肉眼常光下难以看到的法医学物证显现出来。尤其注意发现毛发、精斑、血迹、纤维、涂片、划痕等微量物证。特别要关注现场的隐蔽部位，如顶棚上、地板下、垃圾道等。

(3)深入研究法医学物证　主要分析研究法医学痕迹、物证形成的过程、状态特征，与犯罪行为的

关系等。如现场遗留的痕迹、物品在现场的位置、方向和角度，是谁形成的或遗留的，是在什么情况下形成或遗留的；这些痕迹、物品为什么处于这种状态，形成或遗留后有无破坏；能反映出形成人或遗留人的什么特征；这些痕迹、物品与尸体是什么关系，互相间是什么关系，与周围环境是什么关系等。

(4)正确提取法医学痕迹、物品　现场发现分析研究痕迹、物证之后，要提取带回做进一步检验。提取前首先做详细记录(包括拍照)。动手提取的原则是：能将载体搬到实验室提取的决不在现场提取，不能搬的需专业人员来提取。绝不允许现场勘验人员人为地改变痕迹、物证的原始状态和理化性质。

(5)准确绘制现场图　照相、录像、绘图，目的都是固定现场。方位图、平面图、展开图、立体图、局部图、透视图、人工绘图、电脑绘图等。无外乎一个目的，更易了解现场的全面与细目。

(五)现场勘验的顺序和原则

在实施勘验中，必须确定勘验顺序，就是说确定从现场的什么部位开始勘验；不同的刑事案件、不同的现场范围、不同的现场环境条件，在勘验中所采取的勘验顺序也不相同，应视现场的具体情况来决定。通常法医学现场勘验的顺序应为：①从现场上法医物证到尸体上、活体上的并行勘验；②如果无法并行，就应采取先现场、再活体、最后尸体的顺序勘验；③从外围向中心的顺序勘验。

现场勘验的原则有：①先观察后移动；②先拍照后提取；③ 先地面后空间；④ 先外表后内部；⑤先重点后一般；⑥先易损的物件后稳定部位。

第二节　杀人案件的现场勘验

杀人案件包括故意杀人案件、过失杀人案件和伤害杀人案件等。故意杀人犯罪行为，是我国刑法中所规定的侵犯公民人身权利罪中最严重的犯罪行为，也可以认为是最凶残的犯罪行为。它对于人民生命安全和社会治安秩序造成严重的危害和恶劣的影响。

一、故意杀人案件的基本特点

(一)故意杀人犯罪分子在实施杀人犯罪活动之前，多有预谋过程和准备活动

故意杀人犯罪分子为了在杀人犯罪行为的实施过程中尽可能少地暴露出自己方方面面的特征，尽可能少地遇到阻力或者更有效地克服阻力，以迅速、隐蔽、安全、顺利地实现其非法、故意地剥夺他人生命的罪恶目的。通常要经历周密的预谋过程，进行充分的准备活动，其主要内容包括以下几点。

1.选择杀人手段　故意杀人犯罪分子往往根据意欲实施杀人犯罪活动的当时、当地的有关情况、被害人各方面的具体特点和他自身所具备的、可以运用于杀人犯罪活动的知识、技能和其他有关条件，悉心选择杀人手段，设计作案方案，并竭尽全力付诸实施。

在侦查实践中，常见的故意杀人犯罪手段有如下几种。

(1)利用锐器杀人　利用刀、斧、锥、针等各种锐器，采取砍、刺、切、剪等方式，实施杀人犯罪行为。此类案件，通常可以通过在被害人肌肤、骨质上所形成的创伤以及在死者衣着上所造成的破损，确认杀人凶器的种类特征乃至某些细节特征。

(2)利用钝器杀人　利用棍、棒、砖、石、斧背、榔头等各种钝器，打击人体重要部位(多见于头部)，实施杀人犯罪行为。此类案件同样可以在被害人身上遗留相应的特征。

(3)利用窒息手段杀人　采用掐、闷、捂、堵、压的方法，致使被害人窒息死亡。利用绳索、电线、金属丝、围巾、布带、皮带或其他各种索状、条状、带状物作为凶器，以勒的方式施暴于被害人的颈项部位，致使被害人窒息，实施杀人犯罪行为。也有的杀人犯罪分子首先采取种种方法(譬如：使用药物麻醉等)，致使被害人陷于昏迷状态，或乘被害人由于重伤、重病或其他原因丧失反抗能力之机将其悬吊起

来，使之窒息死亡，并将他杀伪装成死者自缢身亡，以逃避侦查和法律制裁。

（4）投毒杀人　利用各种毒物实施杀人犯罪行为。譬如：在食物、饮料中投放毒物，在被害人卧室或工作间内施放毒气，向被害人体内注射毒液以及借助毒蛇咬伤被害人使其中毒死亡等。此类案件，通常可以通过尸体现象（如尸斑）和法医毒物化验，确认毒物的种类和数量。

（5）徒手杀人　指徒手实施杀人犯罪行为。譬如：将被害人毒打、脚踢致死，将被害人推入水中溺死，推至高楼或高崖下摔死，推至汽车、火车之下，使之被碰撞、辗压致死等。

（6）利用医疗手段杀人　乘被害人因病、因伤就医求治之机，或者利用医疗器械，或者在药物中掺入毒剂，或者伪装成医疗事故实施杀人犯罪行为。

（7）其他　利用激光、放射性元素或其他高新科技手段实施杀人犯罪行为。利用电击或者各种枪械、爆炸物品，驾驶交通工具或放火实施杀人犯罪行为。

2. 准备杀人凶器或毒物　犯罪分子用于杀人犯罪行为的凶器或毒物，通常有如下3种来源：其一是犯罪分子日常在生产、工作、生活中使用的；其二是在作案之前专门买来或者借来、偷来的；其三是在现场附近或者前往现场的途中就地取得的。无论是哪一种情况，都必须在作案之前有所准备、设计。

3. 选择杀人时机和地点　犯罪分子在实施杀人犯罪行为之前，往往要对被害人的起居、作息等活动规律暗中进行窥测或者利用与被害人的各种特殊关系，以公开或隐蔽的方式，对其各方面有关情况进行了解、掌握，从而选择和确定对实施杀人犯罪行为最为有利、恰当的时机和地点，以使得其犯罪活动进行得更加隐蔽而又顺利。

4. 选择接近被害人的方式　犯罪分子常常选择、使用的接近被害人的方式包括：暗中尾随被害人伺机作案；提前潜伏于预定的杀人现场；诱骗或胁迫被害人一同进入杀人现场；秘密潜入被害人所在的房间；以欺骗的手段获准进入或者强行侵入被害人所在的房间等等。

以上种种预谋和准备活动，对于故意杀人犯罪分子而言，大多是必不可少的。虽然这些活动绝大多数是在暗中或者不露声色地进行的，然而无论如何，都会暴露出一些能够被人们感知、察觉的蛛丝马迹，尽管当时或许没能引起人们的充分注意，但在案件发生后，人们往往会产生联想，把他们所看到、所听到的种种有关情况与犯罪案件联系在一起，并反映给侦查人员，从而成为嫌疑线索的重要来源，乃至会成为及时破案的关键性资料。

（二）现场的痕迹、物证丰富而又明显

与其他各类刑事犯罪案件相比较，故意杀人犯罪案件的实施所需要的时间较长，作案过程较为复杂。这是因为，犯罪分子必须采取一定的方式接近被害人或其所在处所；在突袭致死被害人之前，往往要与其进行一番周旋，要遇到被害人竭尽全力的抵抗、搏斗，因而会遗留下较多的足迹或者身体其他部位的印迹以及被被害人撕扯下来的衣片、纽扣等犯罪痕迹及其他物证；在实施杀人犯罪行为之后，为嫁祸于人，转移侦查视线，犯罪分子尚需对尸体和犯罪现场进行种种处理。同时，在许多案件中，犯罪分子除了杀害被害人之外，还伴有抢劫、盗窃、强奸等犯罪活动，因而会遗留下除抵抗、搏斗痕迹之外的破坏工具痕迹以及精斑、毛发等物证。此外，由于案情重大，犯罪分子在作案时的心情往往处于高度紧张、慌乱的状态，因而，常常将自己随身携带或使用的某些物品失落在现场上。在杀人移尸案件里，在犯罪分子抛弃、隐匿尸体处也往往会留下移尸工具、痕迹或包裹、捆扎尸体、尸块的物品等。

值得注意的是，目前有相当一部分智能犯罪分子，杀人后在现场并不遗留丰富的痕迹物证。

（三）有尸体和伤痕可供检验

杀人犯罪分子无论如何狡猾、如何残忍，也难以在将被害人杀害之后，马上将其尸体予以彻底毁灭，这是其犯罪活动受到客观条件制约的必然结果。因而，在绝大多数杀人案件的侦破工作的初期，都有被害人的尸体和尸体上的伤痕提供给侦查人员进行检验，即使是在某些所谓“无尸体杀人案件”的侦破过程中，也有可能在广大群众的协助之下，从查找失踪人入手，查获被犯罪分子转移和隐匿的尸体、尸块或尸骨。尸体的客观存在可以使侦查人员通过其死亡征象、尸体现象和各种各样的伤痕，进行多方面的法

医学检验。同时，侦查人员所发现、检验的尸体，是在某一特定的地点、特定的环境之中，并且和某些客体物（譬如：血迹，凶器，死者的衣、帽、鞋、袜及其他种种痕迹、物品）密切相联，于是，侦查人员便可以将尸体检验和现场勘查结合起来，以判定死者死于他杀，抑或死于自杀、意外事故或者急症，为立案侦查提供依据。而后，侦查人员还可以根据尸体检验和现场勘查所获得的有关资料，进一步分析、推断出杀人犯罪分子实施杀人犯罪行为的时间、地点、方法、手段、过程及其作案动机等等，为确定侦查方向和范围提供依据。如果遇到无名尸体杀人案件，可以根据尸体检验和现场勘查所获得的资料，从速查明死者的姓名、身份和居住地区，为顺利开展侦破工作奠定基础。

（四）犯罪分子与被害人之间多有因果关系，犯罪动机多种多样

杀人犯罪分子实施杀人犯罪行为，必然有其原因，即他与被害人之间的因果关系，这也就导致了杀人犯罪动机的多种多样。概括起来，主要有以下5种。

1. 侵财杀人　包括抢劫杀人和由于盗窃、诈骗、走私等犯罪活动而引起的杀人。

2. 私仇报复杀人　包括朋友、邻里、同学、同事（包括上、下级）之间由于各种纠纷、怨恨、仇隙而引起的杀人，对上述种种，也可以概括为由于人民内部矛盾激化而引起的杀人。

3. 因奸杀人

（1）强奸杀人　即犯罪分子在实施强奸犯罪活动的过程中为消除被害人的强烈、不懈的反抗，或者是犯罪分子在实施强奸犯罪活动之后为灭口而实施的杀人。

（2）通奸杀人　即在非婚或婚外两性关系中，各个方面之间由于矛盾激化或惧怕真相败露或为扫除非婚或婚外两性行为的障碍而引起的杀人。譬如：本夫杀害本妇，本妇杀害本夫，本夫、本妇共同杀害奸夫或者奸妇，奸夫、奸妇共同杀害本夫或者本妇，奸夫杀害另一奸夫，奸妇杀害另一奸妇等。

4. 恋爱、婚姻和家庭纠纷而引起的杀人

（1）恋爱双方在恋爱过程中由于矛盾激化，或者由于“三角恋爱”而引起的杀人。

（2）夫妻双方之间的关系不和睦引起的杀人。

（3）家庭成员之间的不和引起的杀人。

5. 流氓杀人

（1）流氓挑逗、滋事引起的杀人。

（2）流氓或流氓团伙之间的“争风吃醋”、敲诈勒索、寻衅斗殴引起的杀人。

（3）在卖淫嫖娼活动中，嫖客与嫖客、嫖客与暗娼、暗娼与暗娼之间的种种矛盾纠纷引起的杀人。

二、故意杀人案件的现场勘验

对于杀人案件的现场勘验，当到达现场时，常需确定被害人是否死亡，若发现受害人尚未死亡，应即刻组织抢救。

（一）故意杀人案件的现场勘查

1. 对尸体所在地点的勘查　在对尸体所在地点的勘查过程中，勘查人员应认真研究其所处的地域位置、周围环境、现场内部情况，首先认定它是否为犯罪分子实施杀人犯罪行为的第一（或称主体）现场。在侦查实践中，如果发现尸体的地点并非或可能并非杀人犯罪分子实施杀人犯罪行为的第一现场，便应当根据尸体周围的痕迹（譬如：移尸所形成的拖擦痕迹、血滴线、足迹、交通运输工具痕迹等）所指示的方向，以及尸体上的附着物的种类（如：泥沙、污垢、木渣、草叶、树叶等），推断犯罪分子是采取什么方法、使用什么工具、通过哪条路线、由哪个方向移尸至此地，进而寻找第一现场。

2. 对犯罪分子遗留于现场上的痕迹及其他物证的勘验和研究　在犯罪分子进出现场中心部位的路线上，应当注意发现其足迹、手印或攀扶、蹬蹭痕迹。这在现场勘查工作中显得尤其重要。同时在犯罪分子进出口不甚明显的杀人案件现场上，对于上述痕迹的发现，有助于对犯罪分子进出口的确认，因而

也就有助于对犯罪分子在犯罪现场上的活动全过程的分析、判断。

在杀人犯罪现场的各个部位，还应认真寻找、搜索犯罪分子遗留的杀人凶器。收取时，应注意保全上面的犯罪分子的手印、黏附的染料、灰尘、油漆、油垢等物质和气味。收取后，应首先交由被害人亲属、邻居进行辨认，以查明该凶器是否为被害人家中原有的，然后，分析它可能为哪些人所常用，并查询其生产、出售的区域或单位。遇到枪杀案件时，应当注意寻找射击弹壳、弹头。除上述外，还应当注意发现、收取犯罪分子遗留的衣、帽、手套等随身物品。通过对这些物品的研究，有助于分析判断犯罪分子的个人特征、居住地区、经济状况以及生理上的某些特征。同时，还可以组织群众进行辨认，寻找该物品的所有者或曾经使用者，以发现重大犯罪嫌疑分子。

需要指出的是，对现场存在的痕迹、物品，必须通过分析研究和调查核实，以辨明它是否确系犯罪分子所遗留，避免使侦查工作误入歧途。

3. 对现场血迹的寻找、收取　血迹是杀人现场常见的痕迹，其他现场偶见。现场中的被害人或犯罪嫌疑人只要出现开放性损伤，现场中就会遗留血迹。

(1)现场血迹的观察与分析　观察、勘验中不仅要注意现场明显部位的大量血迹，而且要注意现场隐蔽部位的微量血迹。在露天杀人现场上寻找血迹，应将尸体周围的砖石、棍棒、花草等作为重点。在室内杀人现场上寻找血迹，应将墙壁、地面、被褥、凶器、家具、陈设以及其他与犯罪活动有关或者可能有关的部位或物品作为重点。在寻找时，除应注意发现鲜红色的新鲜血迹外，还应当注意发现可能是陈旧血迹的带一定颜色具有光泽的斑迹。观察时，可以利用各种不同角度的光线，也可以滴以联苯胺溶液或Luminol溶液，辨明其是否为血迹(血迹在联苯胺溶液的作用下呈蓝色)。

发现血迹后，要注意观察血迹范围大小，血迹的分布状态、形状、排列、流淌方向，血迹量的多少、高度以及颜色变化等。这对于分析是否为原始杀人现场、尸体是否被移动、杀人作案时间以及出血人在现场的活动情况，案犯有无受伤等均有重要意义。

血泊是人体大量出血聚集在一起形成的血液痕迹。血泊所在的现场往往是原始杀人现场，根据血泊可以判断受伤者在现场的位置，根据血泊量的多少可以判断受伤者的行为能力和生命状况，根据血泊的颜色变化可以推断作案时间。

血滴是血液自然滴落形成的。有圆形、椭圆形血滴等。据此可以判断受伤人当时的体态、行进方向、行走路线、活动范围和行走速度等。

血流注痕迹可以反映受伤人受伤时的体位姿势，也可以判断有无移尸。

喷溅血迹是人体动脉受伤破裂高压喷出或人体头部遭反复打击喷溅在物体或人体上形成的。根据喷溅血迹的位置、形态、方向、角度和高度等，可以判断受伤者受伤当时所处的位置及活动情况。

“惊叹号”状血迹是受伤人甩动受伤肢体或头部，攻击人甩动凶器抛甩形成的。可以判断行凶时犯罪嫌疑人的位置。

擦拭状血迹是现场中带血物体与其他现场物体间相接触摩擦形成的血迹。主要有2种情况：①故意擦拭，是犯罪分子破坏现场或伪装现场所形成；②无意擦拭，是行为人在现场做某一动作行为时形成。这种血迹很有价值，它可以判断现场行为人的活动顺序、方向和范围，也可以判断其是否受伤出血。

血印痕主要有人体手、脚、头、膝、臀等部位的血印痕，以手、脚血印痕最有价值。

案例：1997年12月某日，某市烟厂临时工高某被他人用菜刀砍死于卧室内，死者头部、颈部和双上肢砍达数十处，现场地面遗留有一处血泊，多处擦拭状和滴落状血迹。勘查中发现，沿房内地面至房外地面形成有一规律性的间断性滴落状血痕，并沿房檐下延伸至马路上数百米，集中出现在马路一侧，血滴除有间断性外，同时还带有方向性，因落差而形成的形态与房内相比明显表现出落差更高，形态更趋一致。经血痕检验，属人血但与死者血型不相符合。从血泊处的尸体可定为第一现场，从尸体到马路上血迹的分布，范围较大，数量较多，有时可出现连续的滴落状血痕，分析为作案人在行凶过程中受伤而逃离现场时所遗留。滴落状血痕的星芒状差异点，是判断其出血部位当时所处体位状态高低及移动方向

的依据，血滴血痕检验与死者血型不合，推测血滴为凶犯所留。破案后证实了判断的正确性。

(2)现场血迹的提取方法 现场血迹提取之前，应先照相固定或描图。进行观察分析时应注意以下几点：第一，现场搬动、翻转尸体时，血液易从伤口流出，形成新的血痕，易和原有的血痕混淆；第二，伤者死亡前对伤口的触摸，使原有的血痕形态受到破坏；第三，衣袖和袖口等处阻碍或破坏血液的流淌；第四，较暗或深色物体上的血痕，因血痕与物体的颜色接近而不易观察；第五，清洗创口周围，使原有血痕形态破坏甚至消失。

现场血迹的提取方法有以下几种。

1)整体提取法 适用于血迹附着在易带走的客体上，如纸张、衣服、鞋帽、台灯、桌椅、床上用品、树叶上等。

2)局部提取法 适用于血迹附着在不易带走的客体上，如墙壁、地面、门窗、大型交通工具上等。

3)转移提取法 此方法是用一根白色棉纱线，中间用生理盐水沾湿，用手拉紧纱线两端在血迹上摩擦吸附，将血迹转移在纱线上，然后带回检验。此方法用于现场笨重而不能移动物体上的微量血痕及贵重工艺品上的血痕提取。

4.对死者生前基本情况的了解 其主要内容如下。

(1)死者出身、历史、政治态度、经济状况、性格特点及其家庭、社会关系状况。

(2)是何人于何时、何地最后一次见到被害人的，当时他和谁在一起，正在做什么。

(3)死者生前言谈举止是否正常。

(4)死者有无自杀原因和可能。

(5)对于死者到达发现尸体的地点的原因和过程，可以推断出几种可能。

(6)在推断出的发案时间内，是否听到过死者的呼救声或其他异常声响等。

(7)了解死者死前的症状、体征等现病史以及既往病史。

除上述外，还应向被访问人问明发现尸体的时间、地点和经过。如果遇到侵财杀人案件，还应当查明被攫取的财物的种类、数量和特征。如果被害人尚未死亡，在抢救过程中应抓紧时间询问其姓名、单位、住址、被害经过和犯罪分子的有关情况。

(二)杀人案件的尸体检验

杀人案件的尸体检验，应当由法医和有关专业技术人员进行，其主要内容如下。

1.观察、研究尸体所在的位置和姿态 以判定死者是死于自杀、他杀或者其他意外事故(包括猝死)。如果判定为他杀，还应当推断是在什么情况下被杀的。

2.尸体衣着的一般检验 此项检验应当按照从上到下、从前到后、从外到内的顺序进行。在检验过程中应当特别注意观察各层衣着内外的异物、异迹、异态。这里所说的异物，是指各种附着物质，异迹主要是指血迹，异态是指被撕毁或者被损伤(即各种钝器、锐器损伤)的状态。如果是被损伤，还应当注意观察这些损伤的状况与尸体上的损伤是否相对应。

3.尸体外表检查

(1)尸体的一般情况检查 如身高、体态、营养、发育状况、有无畸形、疾病或者特殊标志(譬如：文身、瘢痕、陈旧性伤痕、痣等)以及毛发生长情况等。女性尸体，还要注意处女膜、是否怀孕、是否生育过等。必要时，还应当提取阴道内容物送检，以确定其生前是否有过性行为或者死后是否被奸淫过。

(2)尸体异物检查 尸体异物，是指尸体体表和体内所存在的非其本人所正常具有的物质。如：毛发内、口腔、鼻腔、耳道、腋下、阴部及指甲缝等处附着、遗存的木屑、泥沙、柴草、黏液、药物、毛发、肌肤、血迹、纽扣、布屑等。这些尸体异物有助于分析、推断死者的死亡原因、被害经过和案件性质，为侦查破案提供明确的侦查范围和方向。

(3)尸体外表伤痕检查 检验时，应当注意伤痕的数目、伤痕之间的位置关系和每一伤痕的部位、方向、角度、深度、长度、宽度、颜色等各种特征，以分析推断损伤形成的大致过程、致伤凶器的种类、犯罪

分子的人数、其身上是否可能沾有血迹或是否可能受伤等情况。

(4)尸体现象检查　对于确定某人是否已经进入生物学死亡及其死亡的时间、原因和死后是否曾经被移动过等情况具有重要的意义。对尸体现象的检验包括测量尸温，观察尸僵的部位和程度，尸斑的部位、颜色和程度，尸体局部干燥和尸体腐败的程度等。

通常仅凭尸表检验尚不能够解决死者死亡原因等问题，应当按照有关规定进行尸体解剖检验。

如果遇到无名尸体，还应当按印其十指指纹，以便辨明现场手印的遗留者和进行尸体辨认，同时，应当拍照尸体辨认照片，并记录尸体特征，以查明死者姓名、身份。

三、侦查杀人案件必须判明的问题

刑侦人员到达存在尸体的现场之后，必须判明如下几个问题。

(一)死者的死亡原因

在侦查实践中，常常遇到犯罪分子将被害人杀害之后伪装成自杀或者意外事故致死。因而，明确他杀与自杀、意外事故致死的区别，显得格外重要。

1. 他杀与自杀的区别

(1)现场现象的区别　自杀现场上没有挣扎、搏斗、抵抗的痕迹，尸体旁多有致伤工具或者剩余毒物，且多有死者的遗书。现场上的足迹、手印、血迹、气味仅限于死者本人所遗留，现场上不存在事件发生之前所没有或者非死者生前随身携带的物品。如果中心现场位于室内，门窗大都呈关闭状。

他杀现场多呈混乱状态，往往遗留有因搏斗、自卫而形成的痕迹和非现场上所原有、非死者生前随身携带的物品。现场上有明显的犯罪分子的进出口或来去路线。在尸体附近遗留有除死者以外的足迹、手印、血迹、气味、毛发或者死者本人不可能有的遗留物品。凶器所在位置距死者很远(为死者所不能及之处)，甚至不在该现场。血迹的分布位置与致命伤部位和致伤顺序不相对应。强奸杀人案件等都有各自的特征。

(2)死者损伤的分布位置、排列情况和严重程度的区别　自杀者损伤分布集中，均位于死者自身(或借助于自杀工具)所能达到的部位。死者四肢无抵抗、自卫伤痕。

他杀致死者，损伤分布散乱，方向不一，身体各部位均可出现，而且有些损伤是死者自身(或者借助于致伤工具)所不能造成的，死者四肢常常出现抵抗、自卫伤痕。如果是持枪杀人，则远距离和近距离射击特征均明显。如果犯罪分子将被害人杀害或致昏迷之后将其悬吊起来，伪装成自杀现场，有相应的特征可供鉴别。如果位于水中的尸体，则可发现有其他致命、致昏创伤。

(3)凶器种类和性状的区别　自杀者多选择较轻便、体积较小的工具。他杀者较常常使用比较笨重、攻击力、杀伤力强的凶器。

(4)死者手上所遗留的痕迹、物品的区别　自杀者若系使用锐器自杀致死，手上多留有血迹，且多位于手背，而他杀致死者则不一定。自杀者若系使用短枪自杀致死，持枪手多有血迹及烟晕，他杀者则无。他杀致死者手掌中或者指甲内可留有衣片、纽扣、皮肉组织、血迹、毛发等异物，自杀致死者则无。

(5)死者生前表现的区别　自杀致死者往往具有各种各样、并且能够被其亲友及周围群众所察觉的自杀原因，自杀致死者生前的情绪和行为有反常表现，或流露出自杀念头、迹象等。

他杀致死者常常是在正常的生活、工作或者学习中突然遭到杀害的，无上述种种自杀因素，然而常常可以在群众中反映出他与犯罪分子的某种利害关系。

2. 意外事故所致损伤的基本特点　大的灾害一般具有地区性，多为人所共知。至于跌倒、误被坠落物击中、枪支走火等，损伤部位则视情况而定，没有一定的规律性。灾害性损伤的特点是现场情况与损伤相符，没有人为改变(除灭火、救护工作对现场的破坏)，每处损伤都可用现场情况解释。

(二)犯罪分子的杀人动机

犯罪分子的杀人动机是推动其铤而走险、实施杀人犯罪活动的内心起因。犯罪动机是犯罪分子的心理活动,并会程度不同地外化为情绪或者行为表现。了解其动机,有助于案件性质的确认和侦查工作的方向和范围的划定。

不同的杀人动机,会驱使犯罪分子在犯罪现场上进行不同的犯罪活动,产生不同的现场。如果以侵财为杀人动机,在现场上就会出现箱柜等存放公私财物的器具被撬坏或者被害人被搜身、现场内和被害人随身携带的财物被攫取等现场现象;如果以强奸为杀人动机,那么在现场上就会出现搏斗、尸体衣着不整、下身裸露且有精斑遗留等现场现象。

被害人损伤情况的不同可反映不同的杀人犯罪动机。如果犯罪分子以泄私愤、图报复为杀人动机,那么,其杀人手段往往非常残忍,死者损伤往往非常严重,有时,甚至会全家被杀。如果犯罪分子因通奸而杀人,那么,其杀人手段往往比较隐蔽,被害人往往被毒害、电击或者在与犯罪分子的平常接触中被突袭致死。同时,尸体往往被移动甚至被肢解。

不同的杀人动机,还会与被害人生前某些方面的情况密切相关。诸如,政治态度、经济状况、生活作风、工作表现、家庭结构、社会交往、婚恋状况,与他人的尖锐的利害冲突、财产纠纷或者奸情关系等。上述方方面面的关系,会对犯罪分子的杀人动机的选择和确立,发挥诱导、制约作用,因而也可以为侦查人员的分析判断提供线索和依据。

(三)犯罪分子实施杀人犯罪活动的时间

由于时间具有一维性、排他性或称不可逆转性,因而,在侦查实践中作案时间被认为是不可毁灭的罪证。准确地判明犯罪分子实施杀人犯罪的时间,有助于正确判定、逐步缩小侦查范围,肯定或否定嫌疑对象,印证其口供的真伪。所以,在分析、判断杀人案件的案情时,需要将犯罪分子实施杀人犯罪活动的时间阶段范围压缩到最短、最狭小的限度,以便最大限度地减少工作量,提高破案工作的效率。分析、判断犯罪分子实施杀人犯罪活动时间的主要依据如下。

1. 根据尸体检查确定死亡时间。

2. 死者被杀害时的作息状态,譬如:其衣着状况,床上用品的折叠状况,电灯的明息状态等(尚需结合其生前的作息规律)。

3. 现场上能够表明日期、时间的物品,譬如:车票、船票、影剧票、收据、发货票、日历展示的日期、手表上的日历和时针停顿的位置以及食品或者其他物品干燥、硬化、萎蔫、变质的程度(尚须结合当时、当地的温度、湿度状况)。

4. 被害人的亲友、邻居及现场附近群众最后一次看到被害人或者看到杀人犯罪嫌疑人进出杀人犯罪现场或者听到被害人从犯罪现场内发出异常声响的时间。

(四)犯罪分子实施杀人犯罪活动的地点

对于某些杀人犯罪案件(譬如:杀人移尸、碎尸或者投毒杀人案件)来讲,发现尸体的地点不一定是杀人犯罪的第一现场,而一旦寻找到第一现场之后,该案件的侦破工作就会得到突破性进展乃至全案真相大白。在分析发现尸体的地点是否杀人犯罪的第一现场时,应注意考察其是否存在如下问题。

1. 现场血迹的分布、状态和数量,与尸体的位置、姿态和损伤的位置、程度不相吻合。

2. 尸体上损伤的性状、程度与现场上所遗留的疑为致伤工具的物品特点不相吻合。

3. 尸体上具有明显的抵抗伤痕,而现场上没有搏斗痕迹。

4. 现场和尸体上存在拖擦或移尸工具所形成的痕迹。

5. 尸体上附着的物质与现场上存在的物质种类不一致。

6. 早期尸体现象,如尸僵、尸斑和尸体皮肤印痕的矛盾现象(即尸斑的部位与尸体的姿态不相吻合或者尸僵存在着局部克化)。

（五）杀人凶器

判断的依据在于尸体损伤特征的检查。

（六）犯罪分子实施杀人方法的判断

有助于重建杀人犯罪活动过程以及犯罪分子的职业、生活习惯等方面的特点。

（七）分析犯罪分子与被害人的关系

判明犯罪分子与被害人的关系，有助于从与被害人存在相应关系的人员当中，寻找、发现嫌疑对象，其依据是犯罪分子与被害人进入现场的过程。

（八）犯罪分子的人数

（九）犯罪分子应具备的犯罪条件及其个人特征

这些条件和特征在犯罪活动中会程度不同地暴露于现场痕迹、物证和事主、被害人和证人的视觉、听觉之中。对这些条件和特点的分析、判断的过程，就是刑侦部门所称的为犯罪分子画像的过程，它可为确定侦查方向和范围、认定或否定嫌疑分子提供依据。

犯罪分子应具备的犯罪条件包括：时间条件、犯罪分子与被害人的因果关系条件（即是否相识，有无仇隙或婚姻、恋爱、奸情等关系）、犯罪分子与犯罪地点的关系条件（即是否熟悉、知情）和犯罪分子与现场客体物的关系条件（现场客体物包括破坏工具痕迹、手印、足迹、血迹等痕迹及遗留物、赃物等物证）。还有犯罪的思想基础和作案后的反常表现等。

（十）犯罪分子在现场上的活动过程

此项分析、判断是在上述各项分析、判断的基础上进行的。它通常包括如下内容：犯罪分子是从什么部位，采取什么方法进入现场的；犯罪分子进入现场之后，实施了哪些主要的犯罪活动，其先后顺序如何；犯罪分子在主要犯罪活动实施完毕之后，又进行了哪些旨在逃避侦查和打击的伪装掩饰活动；犯罪分子是从何部位，采取什么方法逃离现场的。分析判明上述四部分内容有助于准确地刻画犯罪分子的人身形象及其他个人特点，确定侦查方向和范围以及甄别犯罪嫌疑人口供的真伪。

第三节　无名尸体案件的现场勘验

所谓无名尸体案件，实际上就是在发现尸体之后的一段时间内，不知其姓名的案件。由于在发现尸体时，有的尸体完整无缺，有的尸体被犯罪分子分解成若干碎块，有的尸体由于软组织完全腐败或被动物啃、啄净尽而成为一堆尸骨，因而，无名尸体案件又可分为无名全尸案件、无名碎尸案件和无名尸骨案件。

一、无名全尸案件的现场勘验

（一）无名全尸案件的特点

无名全尸案件也被称为无名完尸案件，它除具有一般的杀人案件的特点之外，还具有如下特点。

1. 发现尸体的地点，大都不是被害人居住的地区，被害人往往是在异地被杀害的，或者是犯罪分子将被害人杀害之后，将尸体运往异地或抛入江、河之中漂流到异地的。也就是说，发现尸体的地点有的是杀人案件的第一现场，有的则是第二现场。

2. 被害人没有随身携带任何能够证明自己姓名和身份的资料或其他物品，或者是犯罪分子在实施杀人犯罪行为之前或之后，设法将能够证明被害人姓名和身份的一切资料、物品骗取、抢夺或搜掠净尽，予以隐匿或者销毁，使之成为无名尸体。

（二）无名全尸案件的现场勘验

侦查工作应当从查明死者的姓名和身份入手，其具体方法如下。

1. 认真实施现场勘查和尸体检验，尽可能寻觅和搜集能够查明死者姓名和身份的一切线索。

(1)注意研究死者的衣、帽、鞋、袜、装饰品、发型及随身携带的物品和特点，为分析其籍贯、职业提供依据。同时，需注意于尸体或其附近的草丛、洞穴等隐蔽处搜寻能够为查明死者或其他有关人员姓名和身份提供线索的一切物品。

(2)仔细检验死者全身各部位的一切特殊标志，譬如：畸形、文身、瘢痕、痣、疣等。对其额面部尚需于整容之后进行拍照，必要时需捺印其十指指纹。

(3)仔细勘验尸体表面及其衣着上、指甲缝内、头发内、衣兜内等部位的附着物和留存物，为分析、推断死者生前的职业、居住地区、活动区域提供依据。

除上述外，还应当在现场上认真寻找、发现犯罪分子遗留的种种痕迹、物证(如拖擦痕迹、运尸工具痕迹、足迹、杀人凶器及随身携带的其他物品等)。

2. 尽快查明死者身份，判明犯罪分子实施杀人犯罪活动的动机。

(1)发动群众，进行尸体辨认　应当在一定范围内公布案情，组织相关群众，辨认尸体，收集线索。

(2)发布无名尸体通报　如果经过现场附近群众的辨认仍无结果，应当立即发布无名尸体通报，请求有关地区公安机关协助查寻。

(3)查对失踪人　查对工作可以根据对死者生前可能居住的地区和单位的推测有重点地进行，必要时，可以进行人像照片鉴定和指纹、掌纹的比对鉴定。

3. 查明被害人的有关情况，发现嫌疑对象，取证破案。

二、无名碎尸案件的现场勘验

刑事侦查工作中所称碎尸案指罪犯杀人作案后，为毁灭罪证而将尸体肢解离断，以便将碎尸段、块运走丢弃、藏匿或毁尸灭迹的案件，是法医学碎尸检查的主要对象。实践中，曾见其他一些非犯罪原因造成尸体肢体离断的情况，如死后尸体埋葬过浅或暴尸于郊野，其肢体可被狗、狼等动物咬断分离；江河中漂动的尸体可受轮船螺旋桨的切削或随急流冲击礁石而将肢体解离；医院工作人员或病人家属偶有将手术截断的肢体未送火化处理而随意丢弃。上述离断肢体被发现时，由于案情不明，也有作为碎尸案而要求进行检查的。对碎尸案例必须通过周密的案情调查和现场勘查；对碎尸段、块作详细的检查，并进一步做实验室检验，综合全面资料得出鉴定结论。碎尸鉴定要求解决的问题，一般包括：所发现的碎尸段、块是否人的肢体和器官组织；是否同一人的；确定尸体的性别、年龄、身长、职业及其他个人特征；死亡原因；碎尸的手段和凶器推断；推测死亡及碎尸时间。

(一)无名碎尸案件的特点

1. 往往不能在碎尸块中发现可以直接证明死者姓名和身份的物品。

2. 碎尸的地点大多在犯罪分子或者被害人的独身居室或隐蔽处所，以避人视听。

3. 犯罪分子与被害人之间多有密切的交往和明显的利害关系。

4. 犯罪分子分解尸块的手段残忍，遗弃、藏匿尸块的手段狡猾。有的将死者头颅割下来，再予以毁容，或者进行蒸煮、火烧、油炸，或者将头上的肌、肤剔除而使之变为骷髅。有的还将死者身上的斑痕、痣、疣、文身，甚至乳房、生殖器予以切除，而后将尸块分散包装，抛弃于不易被发现的隐蔽处所，或者扔进自家的下水道里，或者埋藏于垃圾堆、旷野、土丘、树林之中，或者抛入池塘、芦苇丛、水井或江、河、湖、海之中，或者打在行李、包裹内，托运至外地，或者遗弃在车、船内，使其被拉运至外地，有的甚至将人肉食用或喂养动物或家畜等。

(二)无名碎尸案件的现场勘验

碎尸案的现场一般分为杀人碎尸的现场和丢弃碎尸块的现场。应该按照无名碎尸案的特点组织现场勘验。抛尸现场可能分布多处，须逐一进行现场勘查，并绘制发现碎尸段、块的现场分布图。在疑为

杀人碎尸的现场，应详细寻找和发现血痕，观察和记录血痕在现场的分布情况。

1. 尽力搜索全部尸块，然后将其拼接为一体，以揭示被害人尸体的全部特征。

2. 研究、判断死者的所有个体特征，捺印其指纹。同时，要根据其各方面的特征，研究、判断其居住、活动的地域范围，有的放矢地发布无名尸体通报和组织群众进行辨认，查明被害人的姓名、身份。

3. 对碎尸块进行法医学鉴定（参阅第九章），解决碎尸鉴定要求解决的问题。

4. 仔细勘查尸块或其包装物表面的附着物，确定其种类和性质，为寻找杀人、碎尸现场，判断死者生前职业和犯罪分子居住、活动的区域等提供依据。

5. 研究尸块的包装物和盛装工具，要注意发现、研究其产地、厂家、销售范围等。同时，还应当在包裹物、盛装器具上寻找、发现可供分析、判断死者身份、被害时间及犯罪分子或被害人的居住、活动地区有关的线索。如报纸、发货票、字条、电话号码、符号，以寻找嫌疑线索。此外，还应当在尸块包装物和盛装器具上显现、提取、研究犯罪分子遗留的手印、脚印或者其他有关痕迹，为侦查破案提供线索和依据。

6. 在查明死者的姓名、身份之后，按照无名全尸案件的侦查方法进行侦查。

三、无名尸骨案件的现场勘验

（一）无名尸骨案件的基本特点

1. 被害人的尸骨被发现的时间距离案件发生时间较为长久。

2. 犯罪痕迹及其他物证因屡遭自然现象的破坏而数量很少，有时可发现尚未腐烂的毛发、发卡、纽扣以及某些塑料或者橡胶制品。这些，都可以用来作为识别死者的依据。

3. 发现尸骨的地点，大都是偏僻、隐蔽的处所，如荒山、山洞、地道或者地下等。

（二）无名尸骨案件的现场勘验

1. 通过仔细的现场勘验，尽可能多地收集尸骨、牙齿和尚未腐烂的毛发、服饰、纽扣、纸片、票证等遗留物品。

2. 运用先进科技方法，对尸骨、牙齿、毛发等进行检验、鉴定，对死者生前服饰和其他随身携带的物品进行研究，进而对死者的人身特征做出尽可能符合实际的判断，如利用法医人类学的知识推断死者的性别、年龄、身高。发现其他生理、病理特征，推断死亡原因、凶器特征及死亡时间等。

3. 在分析、判断出死者的个人特征以及死亡时间之后，应当立即发布无名尸体通报，并在发现尸骨的现场附近深入发动群众，进行调查访问，结合失踪人登记和外地发来的失踪人通报，查明死者姓名、身份。

4. 在查明了死者的姓名、身份之后，即可按照无名全尸案件的侦查方法进行侦查。

第四节　爆炸案件的现场勘验

一、爆炸案件的特点

1. 爆炸案件现场可供研究的现象、残留物较多，如爆炸的轰响声。爆炸声使周围几里路的人均可听到，因此，爆炸的时间、地点立即可以确定。爆炸的火光、烟尘颜色、气味为勘查现场前初步识别炸药种类提供了条件。在案件现场上遗留有残余的炸药、起爆装置、导火线、纸屑、金属残片、包装物残片等残留物，为勘查人员推断炸药种类，案件性质，案犯对爆炸物的了解、掌握、应用情况提供了条件。

2. 爆炸现场常伴有伤亡。

3. 爆炸案件中犯罪分子的因果关系明显。

4. 案犯具有使用爆炸物品的知识和取得爆炸物的条件。

二、爆炸案件法医学现场勘验

爆炸案的现场勘验主要包括：①确定有无爆炸发生可能；②爆炸点的勘验；③残留物的勘验；④抛出物的勘验；⑤周围环境的勘验；⑥伤亡人员的检验；⑦爆炸粉尘的采取等。凡有人员伤亡的爆炸案件，法医学现场勘验都具有十分重要的意义。

（一）法医应搜集所有人体组织，及时进行法医学初步检验

法医学现场勘验的重要任务是，搜集、提取一切与人体有关的被爆炸的人体组织碎块、衣物、随身物品等，以及初检现场上遗留的尸体。参加爆炸案现场勘验的人员较多，但其中化验人员着重于发现、提取有关爆炸残留物，痕检人员着重于发现、提取有关爆炸装置，所有与人体有关的物品则均应由法医去搜集、提取。可将临场法医分成若干小组，按现场分段、分片划成小区，各负其责，将区域内的每一块人体残留组织都尽量搜集，并分别包装、提取。

对现场尸体进行初步法医学检验，主要是对尸体分布的位置、姿态与爆炸散落物体的关系等进行固定和检验，同时协助化验人员提取尸体上的有关爆炸残留物，以防搬运尸体时被破坏。此项工作十分重要。如在一公交汽车爆炸案的现场勘验中，在爆炸中心后侧发现2具尸体并排在一起被压在一个靠背椅的铁架上，反映出他们在爆炸时应并排坐在被炸汽车的最后一排。由此，以他们为基点，对分析其他人员爆炸时所处的位置起到了重要作用。

（二）爆炸伤的鉴定

爆炸现场常常伴有人员的伤亡，法医检验尸体和伤残者的人身是现场勘验的重要环节。

对伤残者，在积极抢救的前提下，一是要确定损伤的部位、种类、形成和严重程度等；二是要配合医生抢救，及时询问与爆炸有关的问题。

爆炸现场的尸体损伤，主要表现为大面积的组织缺损，不同程度的烧伤，爆炸物的射入伤，气流冲击伤等。凡炸药爆炸必有炸点（亦称爆炸中心）。贴近炸药的人体上会有炸碎伤，较远一点的人体上会有炸裂伤，更远一点的人体则出现冲击波伤等。因此，对爆炸伤进行认真细致的检验和鉴定是法医的首要任务。在检验中，不仅要解决死亡时间、死亡原因问题，而且要分析爆炸时死伤者所处的原始位置；与爆炸点的距离、方向和角度；爆炸时所呈的体位姿势；是爆炸案件的被害人还是犯罪分子等。因此要求法医对每一具尸体的损伤都进行详尽观察，并准确地确定各个损伤的部位、类型以及程度。如在一公交汽车爆炸案中，共发现16具尸体，其中4具尸体上有炸碎伤，10具尸体上有炸裂伤，2具尸体上仅有冲击波伤。据此认定4具有炸碎伤的死者在爆炸中心位置，离炸药最近。而其中1例颜面、胸、腹部完好无损，但其胸背部、臀部及双下肢却被炸碎难以修复，表明死者应位于炸药前面，背对炸药取坐位。另1例颜面部有碎裂伤，胸部大量黑色烟晕附着，左大腿从腹股沟处以下被炸碎，表明死者应位于炸药的右后侧，面对炸药取坐位。另有2具上半截残尸，其中1例颌部有炸裂伤，右臂从肩关节下被炸断，左臂从肘关节下被炸碎，躯干从腰$_2$椎部以下被炸碎，但通过将搜集的残块与之拼接，认定其双手存在，说明该死者应位于炸药的左上侧且取坐位。而另1例右额部及顶部均有炸裂伤，右上肢从肩部被炸碎，从胸$_{10}$椎部以下缺失，但通过将搜集的残块与之拼接，发现其会阴部及臀部皮肤较大面积完好无损，左下肢大部分软组织残留，推测该死者应紧位于炸药右侧，背对车头、右侧面对炸药且取蹲位（或半蹲位），从而反映出该死者具有明显的反常动作行为。再结合其他调查情况证实，此人即是引爆嫌疑人。

（三）个人识别

爆炸案特别是伤亡人员较多的案件，伤亡人员的尸（身）源的认定，既是案件的需要，又是社会稳定的需要。特别是案发初期，对尸（身）源认定的工作，有时可能放在其他工作的首位。在尸体检验中，除对尸体上爆炸伤的鉴定外，法医的主要工作应放在对尸体个人特征的认定上。首先对尸体的颜面部，特别对有爆炸伤、烧伤的颜面部进行修复整容，然后拍照固定。另外，对每具尸体的衣物、随身物品、尸体

的个体特征等进行详细记载，并及时通知给善后处理部门，同时对有关重点人员的手纹进行捺印。这对认定死者身源具有重要作用，必要时可作 DNA 分析，进行个人认定。

此外，尚有其他案件如强奸、机械性窒息、烧死、电击死、冻死等的现场勘验，其总的原则一样，但有其各自的特点，在此不一一介绍。

参 考 文 献

1 Vanezis P, Busuttil A. Suspicious death scene investigation. 1st ed. London: Arnold, 1996. 103～180

2 陈康颐主编. 应用法医学各论. 上海：上海医科大学出版社，1999. 1～59

3 庄明洁著. 谋杀案件的识别. 北京：中国人民公安大学出版社，1991. 146～208

4 原大明，吴林长. 命案现场中血痕形态分析与应用 2 例. 刑事技术，2001，2：46～47

5 胡家伟，常海晖. “2.14 爆炸案”法医学检验的体会. 刑事技术，1998，5：38～39

第三章 损伤时间推断研究进展

刘 敏

损伤时间推断(dating of injuries)指根据损伤后组织细胞形态变化或分子水平变化推测损伤形成的时间。损伤时间推断是法医病理学检验中的重要内容之一,包括2个方面:一是生前伤与死后伤的鉴别;二是伤后存活时间的推断。

第一节 生前伤的诊断

生前伤(antemortem injury)是生活机体受暴力作用所造成机体组织或器官的形态改变或功能障碍。死后伤(postmortem injury)是机体死亡后受暴力作用所造成的形态改变。

一、生前伤诊断的依据

生活机体受暴力作用后,在损伤局部及全身均可出现一系列的组织反应。这些组织反应通过肉眼、光镜或其他实验室检查方法可窥见,称之为生活反应。这是诊断生前伤的基础。

(一)生前伤肉眼改变

1. 出血 出血是各种组织损伤的重要生活反应。死后损伤,当累及血管时,血液仍可从血管破裂处流出。故在尸体解剖时,一旦发现组织损伤出血,应鉴别是生前损伤或死后损伤出血。

2. 组织收缩 当暴力作用于生活机体致局部组织形成创口时,创缘部位的结缔组织、肌肉、血管等组织均可发生收缩,使创口哆开。创口组织收缩的程度及创口哆开的形状,与局部组织的组织结构有关。死后短时间内形成的创口亦可见组织收缩。

3. 肿胀 生活机体受暴力作用,由于损伤局部炎症性充血和血管通透性增高,使液体成分渗出,引起局部组织肿胀。肿胀出现的时间与损伤的类型和程度有关。

4. 痂皮形成 当外界暴力作用于生活机体造成损伤局部的表皮剥脱或创伤时,渗出的体液或流出的血液可逐渐凝固而形成痂皮。痂皮的颜色与损伤的类型及程度有关。

5. 创口感染　生活机体受暴力作用造成创口或表皮剥脱时，细菌可随致伤物进入损伤局部组织，使受损组织发生变性坏死，从而在损伤局部出现化脓性炎症。

机械性损伤后发生的化脓性炎症，多数位于损伤局部或其附近，但也可发生在暴力作用对侧，即对冲伤部位。另外，化脓性炎症不仅发生于创口表皮剥脱处，亦可发生在闭合性损伤处。

6. 体内异物移动　于人体内发现吸入或吞咽异物是确定生前伤的指征之一。因为只有活体才具有吞咽及呼吸功能。口、咽或喉部的固体或液体状异物可通过呼吸运动被吸入气管、支气管及肺。在尸体解剖时，若从气管、支气管或肺组织内发现异物，对确定生活反应具有一定意义。但应与死后人为现象相区别：死后人工呼吸如进行时间较长，常使异物进入深部肺组织，尤其是液状异物，如血液、胃内容物等。死后人为现象异物的分布与生前吸入不同，曾经施行过人工呼吸的死者，异物常分布于肺的背面和侧面；生前吸入者，无论肺的背面、侧面或腹侧面均可有异物发现，并可进入肺的外周区域。

生前进入口腔的异物，除可被吸入呼吸道外，亦可通过吞咽活动而进入胃内，甚至在胃蠕动作用下进入肠内。死后由于吞咽反射及胃肠蠕动消失，进入口腔的异物不会进入胃肠道内。浸泡在深水中的尸体，因水压大，可使部分水液进入胃内，但一般不进入肠管内。

（二）生前伤组织学改变

1. 局部淋巴结的边缘淋巴窦红细胞聚集　生前组织损伤出血后，从血管内流入组织间隙的红细胞可随淋巴液经引流淋巴管而进入局部淋巴结的被膜下淋巴窦，在光镜下淋巴结被膜下淋巴窦内可看见红细胞。死后损伤无此改变。

2. 血栓形成　暴力致组织局部血管损伤，启动内源性和外源性凝血途径，产生纤维蛋白。纤维蛋白和内皮下的纤维连接蛋白共同作用，使聚集的血小板堆牢固地黏附于受损内膜表面，不再离散，从而形成附壁血栓。

血栓形成为生活机体局部血管内膜对暴力损伤的反应，故损伤局部发现血栓形成可证明为生前伤。

3. 栓塞　栓塞是不溶于血液的异常物质出现于或进入循环血液之中，并随血液流动，进而阻塞血管管腔的现象。阻塞血管的物质称为栓子。法医病理学实践中常见的栓子为血栓、脂肪栓、空气（气泡栓）、羊水及挫碎组织等。栓塞现象亦为一种生活反应。

4. 炎症反应　机械性暴力作用于生活机体可引起炎症反应，炎症反应的发生和发展取决于机械性暴力和机体反应性两方面的综合作用。机体损伤局部发现炎症反应可证明为生前伤。

5. 创伤愈合　当机体遭受外力作用，皮肤等组织出现离断或缺损后，机体对所形成的缺损将进行修补恢复，这一过程称为创伤愈合。在组织内查见创伤愈合过程，可作为生前伤诊断的依据。

（三）炎症介质及反应蛋白的检测

生活机体受暴力作用后生存较长时间死亡者，根据前述肉眼及组织学改变，易于确立生前伤的诊断。但是，如生前损伤后存活时间较短（尤其是8 h内）者，前述损伤后形态学改变不明显，此时生前伤的诊断难于确定。为解决这一问题，法医学者们长期以来致力于寻找损伤后短时间内出现的各种能作为生前伤诊断依据的指标。如组胺、5－羟色胺、纤维蛋白、纤维连接蛋白、白蛋白等物质在损伤局部聚积；损伤局部酶活性改变等。

二、生前伤诊断领域的难题

生活机体受暴力作用后，6～8 h开始出现中性粒细胞聚积于损伤局部组织中，同时受损组织细胞逐渐变性坏死，其生前伤的诊断较容易。对于受伤后存活6～8 h以内死亡者，机体尚无足够时间形成肉眼或光学显微镜可辨认的生前损伤形态改变。研究发现，伤后只需经过1～4 h，损伤局部组织在出现变性坏死形态学改变之前，即逐渐出现多种酶活性改变，通过酶组织化学方法即可证明生前损伤。对于受伤后存活1 h以内死亡者，迄今虽有大量研究文献报道，但生前伤的诊断仍较困难。这主要与以下两

方面的因素有关：一方面当活体组织细胞受到暴力作用后，很快即出现变性改变，这种改变通过电子显微镜，甚至光学显微镜即可观察到；但是当机体死亡后亦很快出现组织细胞自溶改变，这种自溶改变与前述变性改变之间，在形态学上无法区别。在法医学实际检案中，尸体解剖及组织标本采取多在死亡后相当一段时间后进行，故无法区别所观察到的这些形态学改变是生前的组织细胞变性抑或是死后组织细胞自溶。这是生前伤诊断困难的原因之一。另一方面当生活机体受到暴力作用后，在受损局部组织很快即出现炎性介质及早期反应蛋白的聚积，在理论上根据这些改变可诊断生前伤。但是机体死亡（临床死亡）时仅有少数组织细胞丧失对各种刺激的反应，绝大多数组织细胞在临床死亡后一段时间内逐渐丧失对各种刺激的反应，即进入生物学死亡。组成机体的各种组织细胞分别经过多长时间才能从临床死亡阶段进入生物学死亡阶段，至今尚无系统研究。在组织细胞进入生物学死亡阶段之前，当其受到损伤时，仍可出现炎性介质及早期反应蛋白的聚积。这是生前伤诊断困难的另一原因。

三、生前伤诊断的研究现状

生前伤的诊断是法医病理学损伤领域中的一个非常重要但迄今仍未解决的问题之一。随着医学及分子生物学技术的不断发展，许多法医学工作者亦采用多种不同的方法，诸如电子显微镜技术、组织化学方法、生物化学方法、免疫组织化学方法及分子生物学技术等，从不同的角度对这一问题进行研究，期望为这一问题的最终解决提供科学依据。

（一）形态学研究

随着医学科学及相邻学科的发展，生前伤的诊断趋向于多种方法的综合运用，譬如电镜酶组化、电镜免疫组化等。肉眼观察仅作为帮助取材作光镜或电镜观察的一种辅助方法；光镜观察对于损伤动物模型的建立以及一些损伤研究仍有一定价值。目前研究热点大多采用电子显微镜技术进行研究。

1. 脑损伤研究　头部外伤常引起脑损伤，而脑损伤尤其是脑干损伤常引起死亡。在脑损伤程度较轻时其诊断常较困难。姚青松等对头外伤后短时间内死亡者脑干组织学改变进行研究，发现脑损伤组可见出血、水肿及神经元坏死等改变。汪秉康等对 11 例脑外伤死亡案例进行研究，发现光镜下检出的挫伤远较肉眼为多，并可见大脑及脑干轴索、髓鞘有不同程度断裂、变性、排列紊乱、崩解及坏死，轴索断端亦可查见收缩球。他认为在法医学颅脑外伤的检查中除常规切脑肉眼检查外，对肉眼观察脑挫伤很轻或无者，要作详细的多部位镜下检查，在作 HE 染色基础上尽可能作髓鞘、轴索特染，有条件者作扫描电镜检查，以观察挫伤神经细胞、神经纤维及胶质细胞的变化。

盛延良等用动物模型研究脑震荡，发现较大的钝性外力可造成脑组织明显的病理形态学改变和脑电、心电等生理功能的持续性改变，较小的钝性外力则只能造成动物意识的一过性丧失（30 min 以内）及脑电、心电的可逆性变化，脑组织光镜下病理形态学改变不明显。

于晓军等研究大鼠脑震荡，在扫描电镜下发现闭合性脑损伤即刻致死和伤后 15 min 组大鼠脑干部小动脉及其分支可见多数散在的微动脉痉挛，呈节段性变细、扭曲，血管腔直径 2 ~ 5 μm。与 Marmarou A 等学者研究结果相符。于晓军等认为在颅脑损伤时，如果是供应脑干生命中枢部位的血管发生痉挛和脑血流改变，超过神经细胞对缺血缺氧的耐受时限时，可能构成脑损伤后迅速死亡机制之一。

颅脑损伤后，除脑组织有相应形态及功能改变外，其他组织器官亦可出现一系列改变。刘力等利用 68 例颅脑损伤的尸检和临床病历资料，发现在颅脑损伤早期主要表现为左心室内膜下出血、浅层心肌出血，还有散在灶状变性、横纹消失等心肌缺血性改变；在颅脑损伤晚期有多形核白细胞为主的炎症细胞浸润及心肌瘢痕形成等改变。其中有 21 例出现心电图异常，以窦性心动过速和 ST－T 改变为主，严重者出现心律紊乱和房室传导阻滞。这与 Mcleod AA 等学者报道相符。刘敏等分析 34 例颅脑损伤尸检资料，发现神经源性肺水肿发生率为 41.18%，认为颅脑损伤后神经源性肺水肿的发生与损伤后经历时间及脑损伤部位无关，但与脑损伤严重程度有关。这与 Yamour BJ 等学者报道的结果相符。

2. 心脏损伤　胸前区受到钝性暴力作用时，可累及心脏引起死亡，但有时在死亡原因的确定上存在困难。有学者采用动物模型对其进行研究。

宫大威等用自制机械式弹性拉力打击器以不同的力量和速度冲击犬心前区，然后采用透射电镜技术对心脏组织形态学变化进行了观察。结果表明：①轻度冲击后心脏肉眼观察未见明显改变，电镜下可见心肌波浪状变，可见肌原纤维肌节收缩，I 带消失或轻度 I 带增宽乃至肌原纤维断裂；②中重度冲击后肉眼可见心脏挫伤，镜下观察心肌挫伤改变明显，观察 60 min，心肌血管内皮损伤处已有血小板黏附、聚集甚至血栓形成，心肌超微结构损害严重；③同一心脏可有多部位损伤，且损伤程度不均一。本研究进一步表明钝性外力心脏外伤中，虽然无肉眼损伤可见，但其超微结构可有损害。

姚季生等用 200 V 5 mA 交流电造成家兔心脏电流损伤，可见家兔在电击致死之前 ECG 出现室颤波，光镜下心肌纤维广泛断裂，间质出血，小血管周围水肿，房室结细胞核空泡变，胞浆嗜伊红深染；电镜下心肌纤维闰盘撕裂，心肌 I 带消失，肌节缩短，或 I 带扩大，肌节拉长，Z 线移位，肌原纤维溶解等。

3. 骨骼肌损伤　骨骼肌损伤可出现于挫伤或创形成累及深部肌肉时。骨骼肌对缺血、缺氧具有较强的耐受能力。对机体死亡后骨骼肌反应性进行研究亦有助于生前伤的诊断。

崔勇强等用 SD 大鼠造成肌肉切创动物模型，在扫描电镜下，发现生前和死后 8 h 内的肌肉切创创壁，均有纤维蛋白网形成，两者形态无显著差异。死后 16 h 的肌肉切创创壁无纤维蛋白网形成。

王慧君等对 20 例死后 1.25～8.30 h 人体骨骼肌进行机械性损伤刺激后，出现类似于生前伤征象的形态学改变，对 18 例死后 1.25～6.40 h 人体骨骼肌经电刺激后，能产生整个肌肉或局部肌肉的收缩，在电极周围以及电路中的肌纤维形成大片的极具特点的收缩带、条带状嗜酸性变、高度变形的节段状和盘片状崩解等改变。死后超过 10 h 者未见这些改变。

4. 皮肤损伤　颈部皮肤索沟的生前伤诊断有时仍有困难。刘敏等发现在扫描电镜下缢沟出血及纤维蛋白检出率远较光镜为高。在光镜下生活反应不明显的生前缢沟，在扫描电镜下其表面及断面均可见红细胞，并有纤维蛋白形成，可见缢沟部位肥大细胞的形态改变，有助于生前与死后缢沟的鉴别诊断。

（二）组织化学方法研究

1. 皮肤组织损伤　顾云菊等用 Masson 三色染色法发现人体腹部皮肤切创创壁有大量纤维蛋白渗出。竟花兰等用 Hartly 豚鼠造成电流损伤动物模型，对电流斑皮肤进行非特异性酯酶染色，发现生前与死后短时间内的电损伤非特异性酯酶活性有显著差别，在相同实验控制条件下，电击后存活时间越长，电流斑皮肤的酯酶着色反应越深，范围越宽。说明非特异性酯酶对于鉴别生前与死后电流斑具有法医学意义。

2. 心脏损伤　一些法医学者通过动物模型研究心肌缺血后各种酶活性改变，试图为早期心肌缺血的诊断提供依据。

易龙等采用结扎 Wistar 大鼠左冠状动脉制作早期急性心肌梗死动物模型。光镜观察结果发现：糖原含量在缺血 1 h，黄递酶（diaphorase）和乳酸脱氢酶（LDH）活性在缺血 2 h 梗死区明显下降；缺血 4 h，酶活性下降发展到全部缺血区。细胞色素氧化酶（cytochrome oxidase，CCO）、肌酸激酶（creatine kinase，CK）及 ATP 酶活性下降在缺血 4 h 明显。

张国华等亦采用心肌缺血动物模型研究急性心肌缺血脱氢酶变化的规律性，用电镜酶组化技术观察心肌缺血后不同时段琥珀酸脱氢酶（succinic dehydrogenase，SDH）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）的变化。结果显示，心肌缺血 0.5 h 后 SDH 和 LDH 活性开始下降，同时伴有致密体的形成和超微结构改变，随着缺血时间的延长，酶活性下降更加明显，最后消失。这与 Chopra P 等学者报道结果相符。

3. 脑损伤　邓平等采用针刺法造成大鼠脑干损伤，用尼氏体染色、嗜银染色和改良三色法染色观察脑干神经元及轴突在伤后不同时间的病理变化。结果发现，嗜银染色显示伤后 1～3 h 部分神经纤维

不规则增粗，少数断裂，6 h 断端膨大呈球形，15 h 收缩球较为明显，至 24 h 收缩球明显且数量增多；改良三色法显示伤后 3～6 h 部分髓鞘与轴突之间的间隙增宽，15 h 髓鞘明显弯曲，不完全地附着在轴突表面，甚至剥脱，持续到伤后 24 h；尼氏体染色显示神经元核周尼氏体在伤后 24 h 减少。

（三）生物化学方法研究

早在 1965 年 Fazekas 和 Viragos－Kis 即用生物化学方法研究缢死者索沟组织中游离组胺变化，发现其含量升高。之后，许多法医学者发现组胺及 5－羟色胺含量升高对生前伤的诊断有价值。

孙洪涛等用 SD 大鼠造成皮肤切创模型，用高压液相色谱检测发现生前各损伤时间组创缘中白三烯 B_4 含量明显增加，死后损伤标本未见白三烯 B_4 含量增加。贺立文等进一步将皮肤切创模型用 10% 福尔马林固定，仍发现生前切创检材中白三烯 B_4 含量增加。死后伤未检出白三烯 B_4。随着福尔马林固定时间的延长，含量明显下降，但 1 周内仍可检出。

张耀庠等用结扎家兔左冠状动脉建立急性心肌梗死动物模型。用原子吸收光谱法发现：K^+/Na^+、Mg^{2+}/Ca^{2+} 浓度比值在 120 min 内随心肌缺血时间延长呈进行性下降。认为心肌梗死区的 K^+/Na^+、Mg^{2+}/Ca^{2+} 浓度比值可以作为判定急性心肌梗死的重要指标。

张永亮等建立家兔心肌缺血动物模型，用离子交换色谱法检查缺血心肌组织后认为游离氨基酸总量、苏氨酸、甘氨酸、精氨酸以及组胺含量的降低是缺血心肌氨基酸代谢的特征性变化。

但是上述动物实验都未作相应的病理组织学检查对比，实践中尚需考虑如何确定缺血区域及检测标本如何定量和个体差异等问题。

（四）免疫组织化学方法的应用

1. 皮肤软组织损伤研究　何桂琼等采用大鼠切创动物模型，用免疫组化 ABC 法检测切创创缘皮肤组织，发现伤后 5 min，创缘深层出现纤维连接蛋白细网，其渗出量与损伤时间密切相关，死后标本均无纤维连接蛋白渗出。陈晓瑞等用 Wistar 大鼠颈部索沟损伤模型，应用免疫组化 SABC 法发现生前索沟损伤 5 min 即可见损伤组织有纤维蛋白原及纤维连接蛋白阳性反应，随着损伤时间延长，反应加深。死后索沟仅个别的真皮内有纤维蛋白原弱阳性反应。所有对照组均未见阳性反应。

此外，许多法医学者还对皮肤损伤局部组织中表皮生长因子受体（EGFR）、纤维蛋白形成能力、C－反应蛋白、血管内皮生长因子（VEGF）等多种反应物进行研究。

Fechner G 等用免疫组化方法研究骨骼肌机械性损伤后纤维蛋白、纤维连接蛋白、纤维蛋白原及补体 C5b－9 的变化，发现前三者在损伤后立即出现，补体 C5b－9 在伤后 1 h 出现。

2. 心脏损伤研究　心脏损伤研究焦点多集中在心脏挫伤及心肌缺血早期诊断两方面。

赵小红等用 Wistar 大鼠心肌缺血模型，用免疫组化 SABC 法检查发现心肌缺血 30 min，即出现肌红蛋白缺失和纤维蛋白原染色增强。陈建国等发现缺血 30 min 后在缺血心肌局部开始出现血管内皮生长因子（VEGF）表达。此外，还有一些作者发现 FOS 蛋白、补体 C5、内皮素、肌红蛋白等在缺血心肌或损伤心肌组织中，都有一定的变化规律。但是，因为都是动物实验结果，还需要进一步在人体中进行研究。

胡丙杰等采用免疫组化 SABC 法对人体标本检测心肌中碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）变化，发现心肌梗死组 24 例心肌细胞核及血管内皮细胞核呈强阳性；可疑梗死组 21 例中 17 例心肌细胞及血管内皮细胞核为强阳性染色，4 例为弱阳性染色；正常心脏对照组 16 例中 3 例呈弱阳性，其余均为阴性。用免疫组化 SP 法发现梗死心肌均可见不同程度的肌动蛋白缺染，其他非梗死性的直接或间接心肌损害的心肌中，如心脏挫伤、心肌炎、出血性休克、电击死、机械性窒息等，也有不同程度的肌动蛋白缺染。

3. 脑损伤研究　应用免疫组化方法研究脑损伤后组织中各种反应蛋白的变化是目前脑损伤研究的热点，其中有观察脑挫伤后胶质纤维酸性蛋白（GFAP）、增殖细胞核抗原（PCNA）的改变，有学者研究大鼠闭合性弥漫性脑损伤后血清髓鞘碱性蛋白（MBP）含量的时序变化，有学者研究人体脑损伤后组织内白蛋白的变化。

对脑震荡的研究有观察动物模型脑震荡后脑内热休克蛋白70(HSP70)表达变化。

对脑干损伤动物模型的观察,发现伤后纤维连接蛋白沉积于血管周围间质、部分神经纤维及一些神经元内,且随着损伤时间延长,纤维连接蛋白沉积量增加,范围增大。检测星形胶质细胞内胶质纤维酸性蛋白(GFAP)及波形蛋白(VIM),发现有一定的变化。曾昭书等用免疫组化SP法观察大鼠脑损伤后慢性病程中钙调蛋白(CaM)及一氧化氮合酶(nNOS)的变化,发现伤后3 d组伤侧脑皮质阳性细胞数、阳性细胞平均灰度、海马平均灰度均较对照组有显著下降,伤后1周时有回升。其结果与Picone CM等学者研究结果相符。冯强等亦用免疫组化ABC法观察大鼠闭合性颅脑损伤慢性病程中BCL-2变化,结果发现BCL-2蛋白广泛表达于正常大鼠脑内,伤后3 d表达降低,至伤后1周降低明显,伤后4周恢复正常。刘敏等发现大鼠脑损伤后3 d至8周脑内HSP70呈阳性反应,主要见于神经细胞内,正常对照组未见HSP70阳性反应细胞;大鼠脑损伤后3 d及1周组脑内各部位P53阳性反应消失,至伤后3周以后阳性反应恢复,正常对照组神经细胞呈P53阳性反应。

Geddes JF研究弥漫性轴索性脑损伤(DAI),认为用免疫组化方法检测β-APP、PGM_1及GFAP可用于轴索损伤的诊断。

(五)分子生物学技术的应用

随着分子生物学技术的不断发展,其操作步骤逐渐简化,且反应结果逐渐稳定,其在法医病理研究中的应用亦逐渐扩大。

贺立文等用原位杂交技术研究大鼠切创皮肤组织中白细胞介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子(TNF)mRNA的表达,认为TNF-α mRNA检测可用于区别生前伤与死后伤。

周伟和胡内杰等用原位杂交技术观察损伤动物模型中脑组织和心肌组织中c-fos mRNA表达水平,希望找到生前伤与死后伤的鉴别依据。

上述研究有些重复了国外学者20世纪80年代的工作,有些采用了较先进的技术。但是如何将这些研究成果变成可供法医实践的指标尚需作出努力。

第二节 损伤时间的估计

损伤时间的估计同样是基于损伤局部和全身的生活反应的程度来进行的,此处所指的损伤时间主要是指生前损伤后经过时间的长短。

一、估计损伤时间的依据

(一)根据组织学改变

皮肤等组织遭受暴力作用出现缺损后,机体将进行修复,表现为各种组织的再生和肉芽组织增生、瘢痕形成等,皆有一定的规律性,故根据创伤愈合过程可帮助估计伤后存活时间。

1. 伤后存活6~8 h以内者 在这段时间内不能从组织学上区别生前或死后皮肤损伤。

2. 伤后存活8~12 h者 可以观察到白细胞浸润,以中性粒细胞为主。

3. 伤后存活12~24 h者 白细胞形成聚集带(中性粒细胞和单核细胞)。

4. 伤后存活24~72 h者 在伤后48 h白细胞浸润总数达高峰,在72 h纤维细胞开始大量出现,毛细血管开始出芽。

5. 伤后存活3~6 d者 胶原纤维开始形成,在坏死物和异物周围可能出现巨噬细胞。

6. 伤后存活10~15 d者 胶原纤维形成由活跃逐渐减慢,毛细血管数量逐渐减少,细胞数量减少。

(二)根据酶组织化学方法

伤后8 h受伤组织出现明显白细胞浸润,这是鉴别生前伤和死后伤最可靠的组织学指标。在8 h以

内，人体损伤无明显的白细胞浸润。许多情况下，组织细胞功能的改变总先于形态学的变化，检测能引起组织学改变的酶和其他化学物质的变化，比直接观察组织学改变能更早提供生前损伤信息。对于在损伤后炎症反应中起重要作用的酶及炎症介质等化学物质，可用酶组织化学方法及生物化学方法证明，为伤后存活时间的估计提供依据。在本章第一节的部分内容中曾探讨相关的酶及炎症介质等，可供参考。

二、损伤时间估计的难点

损伤局部组织的改变和酶活性的变化过程、受创的大小、损伤类型及损伤部位，以及有无感染、伤者的年龄及健康状况等诸多因素有关。特别是在推断受伤后至伤者死亡的时间，由于损伤严重导致机体死亡，此过程中机体的各种修复机制已严重受损。伤后存活时间估计往往更加困难。在实验研究，特别是动物实验研究中，有时多个指标之间互相矛盾。目前伤后存活时间估计的文献报道虽较多，但多为动物实验结果，由于动物越低等、越小，对创伤的反应较人类越快，因此，这些动物实验结果不能直接应用于人类。这或许是法医病理学工作者在设计实验时首先要考虑的。迄今，尚没有可靠方法准确估计伤后存活时间。

三、损伤时间估计研究现状

目前有许多文献报道采用免疫组化方法或分子生物学技术进行损伤时间估计研究。

1. 脑损伤时间研究　如检测神经元特异性烯醇酶和胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的变化，推断大鼠脑损伤时间，亦有通过观察神经元特异性烯醇化酶及S－100蛋白来研究Wistar大鼠脑损伤时间等。

2. 皮肤组织损伤时间研究　如检测大鼠皮肤组织切创创缘C－反应蛋白含量及分布变化，或检测大鼠皮肤切创组织纤维连接蛋白变化，或检测皮肤组织非特异性酯酶等，来推断皮肤损伤时间。

总之，损伤后存活时间的估计是法医病理学研究的热点之一。

参 考 文 献

1 姚青松，彭兴平，梁赏猷，等．头外伤短时死亡者脑干组织学改变的观察．法医学杂志，1999，15(3)：129

2 Mitchell DE, Adamas JH. Primary focal impact damage to the brainstem in blunt head injuries: Does it exist? Lancet, 1973, 10: 215

3 汪秉康，吴家文，许普．11例脑皮质挫伤远区及脑干病变的光镜和扫描电镜观察报告．中国法医学杂志，1995，10(2)：76

4 于晓军，肖飞，吴家文，等．大鼠闭合性弥漫性脑损伤脑血管铸型的扫描电镜观察．法医学杂志，1998，14(2)：65

5 Marmarou A, Bandoh K, Yoshihara, *et al*. Measurement of vascular reactivity in head injured patients. Acta Neurochir, 1993, 59: 18

6 刘力，王惠来，刘晓维，等．颅脑损伤后心内膜下出血的病理及心电图改变．中国法医学杂志，1999，14(4)：216

7 Mcleod AA, Nei－Dwyer G, Meyer CHA, *et al*. Cardiac sequelae of acute head injury. Br Heart J, 1982, 47: 221

8 刘敏，廖志钢，张永亮，等．闭合性颅脑损伤后神经源性肺水肿的回顾性研究．华西医科大学学报，

1998,29(1):99
9 Yamour BJ, Sridharan MR, Rice JF, *et al*. Electrocardiographic changes in cerebrovascular hemorrhage. American Heart Journal,1980,99(3):294
10 官大威,贾静涛,陈怀芳,等. 钝力冲击后心脏组织形态学变化的实验研究. 法医学杂志,1995,11(4):147
11 姚季生,辛正翰,王健,等. 电击后心脏损伤的实验研究. 中国法医学杂志, 1997,12(1):12
12 瞿勇强,吴家文,汪秉康,等. 死后肌肉切创创壁纤维蛋白的扫描电镜观察. 中国法医学杂志,1993,8(1):24
13 王慧君,Hoppe B, Henssge C,等. 超生反应阶段骨骼肌机械性损伤的形态学研究. 中国法医学杂志,1997,12(4):193
14 Henssge C. The estimation of the time since death in the early postmortem period. London Boston, Melbourne Auckland: Edward Arnold,1995
15 刘敏,吴家文. 扫描电镜下缢沟的形态特征. 中国法医学杂志, 1992,5(1):10
16 顾云菊,王建国,陈忆九,等. 人体腹部皮肤切创纤维蛋白渗出量变化与时间相关性的研究. 法医学杂志,1994,10(2):74
17 竞花兰,胡丙杰,祝家镇. 生前与死后电击伤皮肤 NSE 活性的观察. 法医学杂志, 1994,10(3):97
18 张国华,李德祥. 兔急性心肌缺血脱氢酶电镜－细胞化学变化的动态观察. 法医学杂志, 1996,12(4):195
19 Chopra P, Sabherwal H. Histochemical and fluorescent techniques for detection of early myocardial ischemia following experimental coronary artery occlusion: a comparative and quantitative study. Angiology, 1988,39(2):132
20 何桂琼,吴家文. 大鼠纤维连接蛋白诊断生前伤的实验研究. 法医学杂志, 1994,10(1):11
21 Ohshima T. Forensic wound examination. Forensic Sci Int,2000,113:153
22 Fechner G, Bajanowski T, Brinkmann B, *et al*. Immunohistochemical alterations after muscle trauma. Int J Legal Med, 1993,105(4):203
23 赵小红,胡俊,秦启生. 大鼠早期心肌缺血纤维蛋白原与肌红蛋白的免疫组织化学对比性研究. 中国法医学杂志, 1998,13(2):75
24 胡丙杰,陈建国,徐小虎,等. 早期心肌梗死 bFGF 的免疫组化研究. 法医学杂志, 2000,16(4):205
25 官大威,朱宝利,李庆生,等. 实验性早期心肌挫伤的免疫组织化学研究. 中国法医学杂志,1997,12(1):16
26 吴旭,汪德文,张国华,等. 实验性脑挫伤 GFAP,PCNA 免疫组织化学研究. 法医学杂志, 1999,15(2):65
27 Miyate T, Okada M, Kitamura T. Reactive proliferation of astrocytes studied by immunohistochemistry for proliferating cell nuclear antigen. Brain Research, 1992,590:300
28 孙波,吴家文,刘敏,等. 大鼠脑震荡后早期热休克蛋白 70 表达研究. 中国法医学杂志, 1999,14(2):77
29 Gonzalez MF, Shiraishi K, Hisanaga K, *et al*. Heat shock proteins as markers of neural injury. Molecular Brain Research, 1989,6:93
30 周伟,祝家镇,徐小虎. 大鼠原发性脑干损伤早期脑干的免疫组织化学研究. 中国法医学杂志,1997,12(1):8
31 曾昭书,刘敏,汪秉康,等. 大鼠脑损伤后慢性病程中 CaM 与 nNOS 的免疫组化研究. 中国法医学杂志, 2000,15(2):82

32 Picone CM, Grotta JC, Earls R, *et al*. Immunohistochemical determination of calcium – calmodulin? binding predicts neuronal damage after global ischemia. J Gereb Blood Flow Metab, 1989,9:805

33 Geddes JF. What's new in the diagnosis of head injury? J Clin Pathol, 1997,50(4):271

34 贺立文,祝家镇. 细胞因子(IL-6、TNF-2)在损伤时间中原位杂交法研究. 中国法医学杂志, 1997,12(3):133

35 周伟. 脑外伤后短时间内死亡尸体脑干病理变化. 中国法医学杂志, 1999,14(1):9

36 胡丙杰,陈玉川,祝家镇,等. 实验性早期心肌缺血 c-fos-mRNA 原位杂交研究. 中国法医学杂志, 2000,15(3):133

第四章 早期死亡时间推断新进展

王慧君

第一节 概述

死亡时间(the time since death)在法医学是指死后时间或死后间隔时间(postmortem interval,PMI),死后间隔时间是指从死亡发生时刻起尸体所经历的时间或从尸体发现时距死亡时刻的间隔时间。死亡时间的推断(The estimation of the time since death)是推断或估计死后间隔时间,又称死后经过时间的推测,是法医实际工作中首先要解决的重要任务之一。

1. 死亡时间推断的法医学意义 对死亡时间推断重要性的认识已经历了数个世纪,但无论是过去还是现在,无论案件是简单还是复杂,在案发现场面临尸体时法医要解决的首要问题仍然是死亡时间的推断。由于犯罪活动与死亡时间有着必然的关联,在许多情况下死亡时间标志着案件发生的时间,因此推断死亡时间对确定案发时间,确定和排除作案嫌疑人;对划定侦查范围;对判断嫌疑人是否在犯罪现场、有无作案时间等有着非常重要的意义。此外,随着社会的进步,法律的健全,死亡时间推断对特殊条件下的保险和财产继承也有一定意义。

2. 早期死亡时间推断的研究 长久以来,精确的推断死亡时间,被认为是福尔摩斯侦探小说里的事情。虽然至今也未能做到完全精确的推断或估计死亡时间,但经过几代法医科学家的努力,人们已越来越接近这一目标。特别是对早期死亡时间推断,20 世纪后期做了大量和广泛深入的研究,出版了具有代表性的著作《死亡时间的法医学鉴定》(Melenikov UL,Ealov VV,1978 年)和《早期死亡时间推断》(Henssge C,1995 年);创建了许多行之有效的方法;发表了大量的对死亡时间推断有价值的科研文章,如肌肉超生反应、玻璃体液钾离子浓度、DNA 降解的程度、死后血液的生化变化,死后组织的酶学、免疫组织化学、化学变化等与死亡时间的关系,其中一些结果已应用于法医学实际检案工作。在死亡时间推断研究中,人们认识到多参数或综合参数在精确推断死亡时间中的长处,研究出了一些快捷、实用、并能在案发现场实施的方法,其中最成功的是德国埃森大学法医学研究所所长 Henssge C 教授所创建的死亡时间综合参数检测法和电子计算机程序,已在世界上许多国家得到推广和应用。本专题仅介绍目前已在国际上使用的早期死亡时间推断新技术和一些有意义的研究进展。

第二节　早期死亡时间推断的方法和技术

一、根据尸冷推断死亡时间

根据死后尸体温度下降的变化规律推断死亡时间，是法医学研究得最早和最多、实用意义最大的一种传统方法。早在1839年John Davey医生就发现了尸温测量的法医学意义。Rainy H在1868年提出，直肠尸冷规律符合牛顿冷却定律(Newton's law of cooling)的理论，并设计出了计算死亡时间的公式。目前国际上使用的推断死亡时间的经典手段——列线图法以及以列线图为基础的计算机程序便是在此基础上设计出来的。我国马建中等在Marshall等的尸体直肠冷却数学模型基础上，研究建立了一种适用于环境温度在3~20℃时推断死亡时间的新方法，徐长苗等根据尸温下降规律推导出公式 $Y = a_0 + (a_1 + a_2 b) \times 1 - a_2 b \times 21 + a_3 \times 3$，公式中Y为死亡时间，$X_1$ 为实测的尸体直肠温度，X_3 为实测的尸体直肠温度与环境温度之差。a_0、a_1、a_2 及 a_3 为回归方程的参数。

1. 根据直肠温度下降曲线推断死亡时间

(1)直肠温度　选择直肠作为温度测量的器官，一是因为它属于尸体中心，受环境因素的影响相对较小，能代表尸体内的核心温度(core temperature)；二是因为它又与外界相通，便于测量。人的直肠温度可波动在34.2~37.6℃之间，平均36.9℃。正确测量直肠温度的方式是将直肠测温仪探头从肛门处插入直肠内约15 cm。

(2)直肠尸冷曲线　死后直肠温度下降并非呈线性，而是呈反"S"形曲线(图4-1)，开始有一个平台(plateau)，这个平台被称为"死后尸温平台"(postmortem temperature plateau)。该平台与牛顿冷却定律不相符。造成平台的主要原因是人体死亡后，在一个相当短的时间内，组织细胞并未立即死亡，细胞的代谢活动依然可持续一段时间，肝糖原分解，肌糖原分解，肌肉无氧糖酵解等都可继续产生热量。"平台"之后直肠温度迅速下降直至环境温度，这个曲线部分与牛顿冷却定律相符，该曲线可以通过Marshall和Hoare(1962年)的双指数公式加以说明：

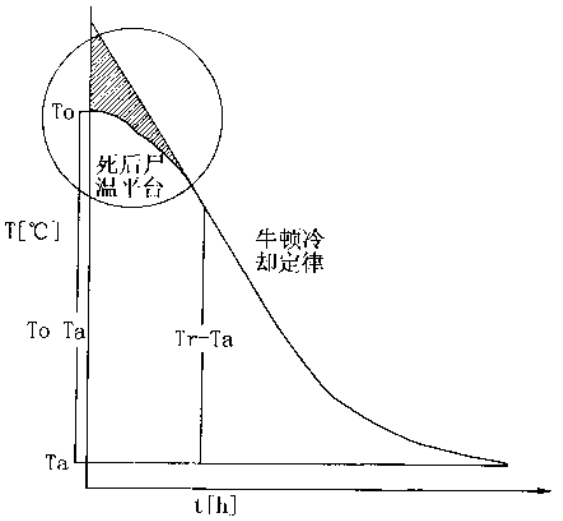


图4-1　直肠尸冷曲线(Marshall和Hoare,1962年)

此图源于Henssge C(1995年)《早期死亡时间推断》

附图说明：Tr = 直肠温度；Ta = 环境温度；To = 临终直肠温度(37.2℃)；T[℃] = 温度(摄氏)；t[h] = 时间(小时)

$$Q = \frac{Tr - Ta}{To - Ta} = A \times \exp(B \times t) + (1 - A) \times \exp\left(\frac{A \times B}{A - 1} \times t\right)$$

Q = 标准温度；Tr = 所有时间测得的直肠温度；Ta = 环境温度；To = 临终直肠温度；A = 常数；B = 常数；t = 死亡时间。exp代表指数(exponent)。

公式里的第二个指数(以常数A表示)代表起始部的平台，第一个指数(以常数B表示)代表平台以后的曲线。常数B依赖于体重。

(3)直肠温度列线图　德国Henssge C教授1988年在Marshall和Hoare设计出的直肠温度下降双指数曲线的基础上，通过大量模拟尸温下降模型的实验分析和数千例尸体的验证，设计出了推断死亡时间的列线图(nomogram)(图4-2)。该列线图被认为是推断死亡时间最基本的手段之一。该图表包括

直肠温度、环境温度、体重等重要参数，通过计算与死亡时间相关的温度来计算死亡时间。可单独使用或与其他检测表格联用。列线图表达死亡时间的公式为：

$$\frac{T_{直肠}-T_{环境}}{37.2-T_{环境}}=1.25\ \exp(B\times t)-25\exp(5\times B\times t);\ B=-1.2815(kg^{-.625})+.0284$$

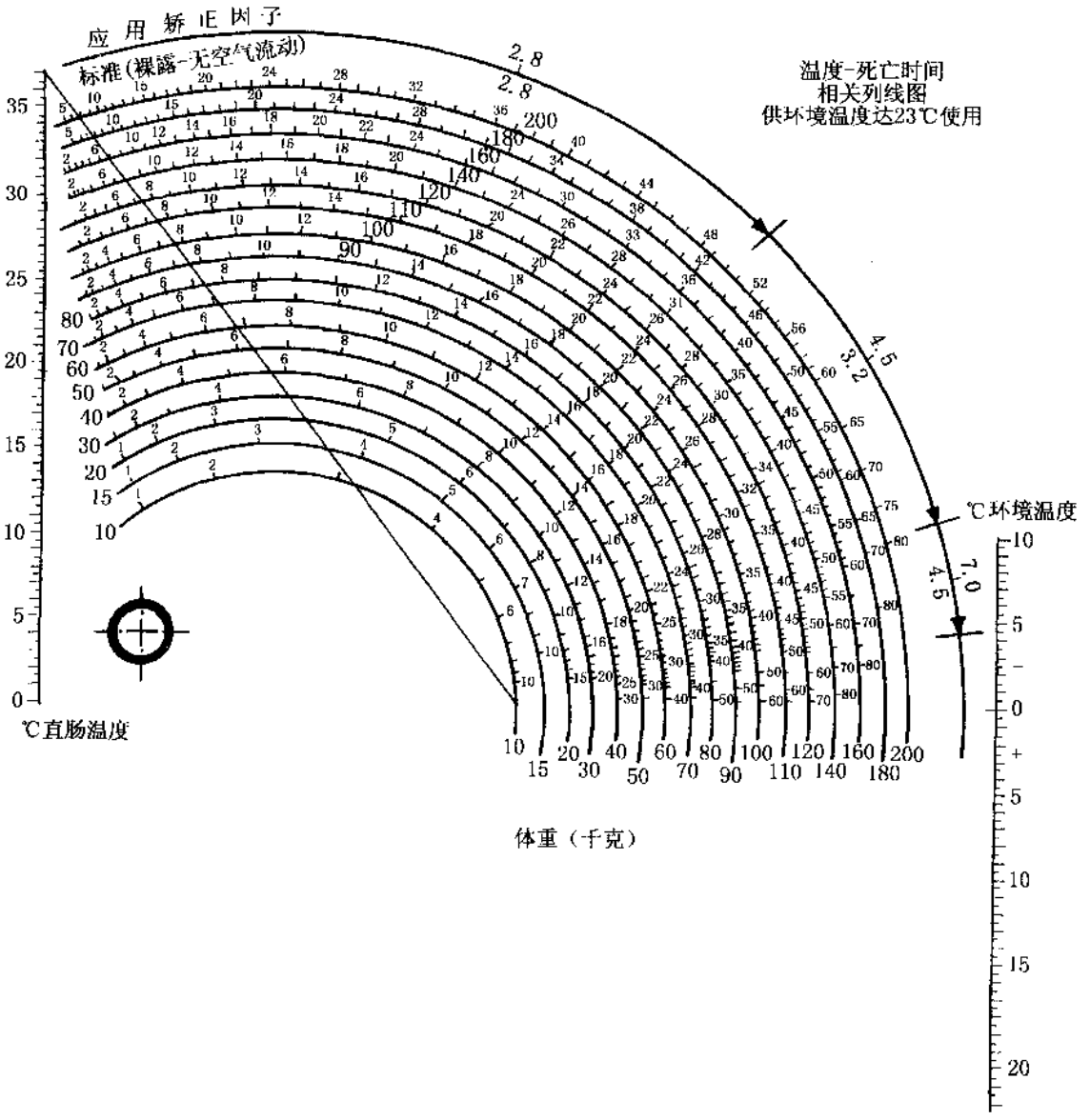


图4-2　温度-死亡时间相关列线图(Henssge C,1995年)(供环境温度23℃使用)

该图取自Henssge C(1995年)《早期死亡时间推断》

该列线图95%的可信度范围为±2.8 h。

列线图计算步骤：第一步将所测的直肠温度与环境温度做一连线；第二步将连线与列线图弯弓内的一条固定细线的交叉点与带圈十字的中点相连，并做一伸沿连线，然后从环线的尸重部分读出死亡时间。

目前列线图有2种：一是单独使用的列线图；二是与校正参数联用的列线图。列线图有环境温度不

同的区别，如环境温度达 23 ℃、环境温度超过 23℃以上、环境温度低于 23℃使用的 3 种列线图。

例如（图 4－3）：直肠温度 =31 ℃，环境温度 = 18 ℃，体重 =80 kg。步骤为：①在左侧直肠温度尺找到 31，在右侧环境温度尺找到 18，连接 31 与 18，得出线Ⅰ；②将线Ⅰ与图中原有直线交汇点与十字圈做一连线，并向右伸沿得出线Ⅱ；③在体重 80 kg 弯线与线Ⅱ交汇点处找到数字 11（10～12 之间），死后时间为（11 ±2.8）h。上述步骤使用列线图的条件是，环境温度为 23 ℃，裸尸，使用（体重）矫正因子。

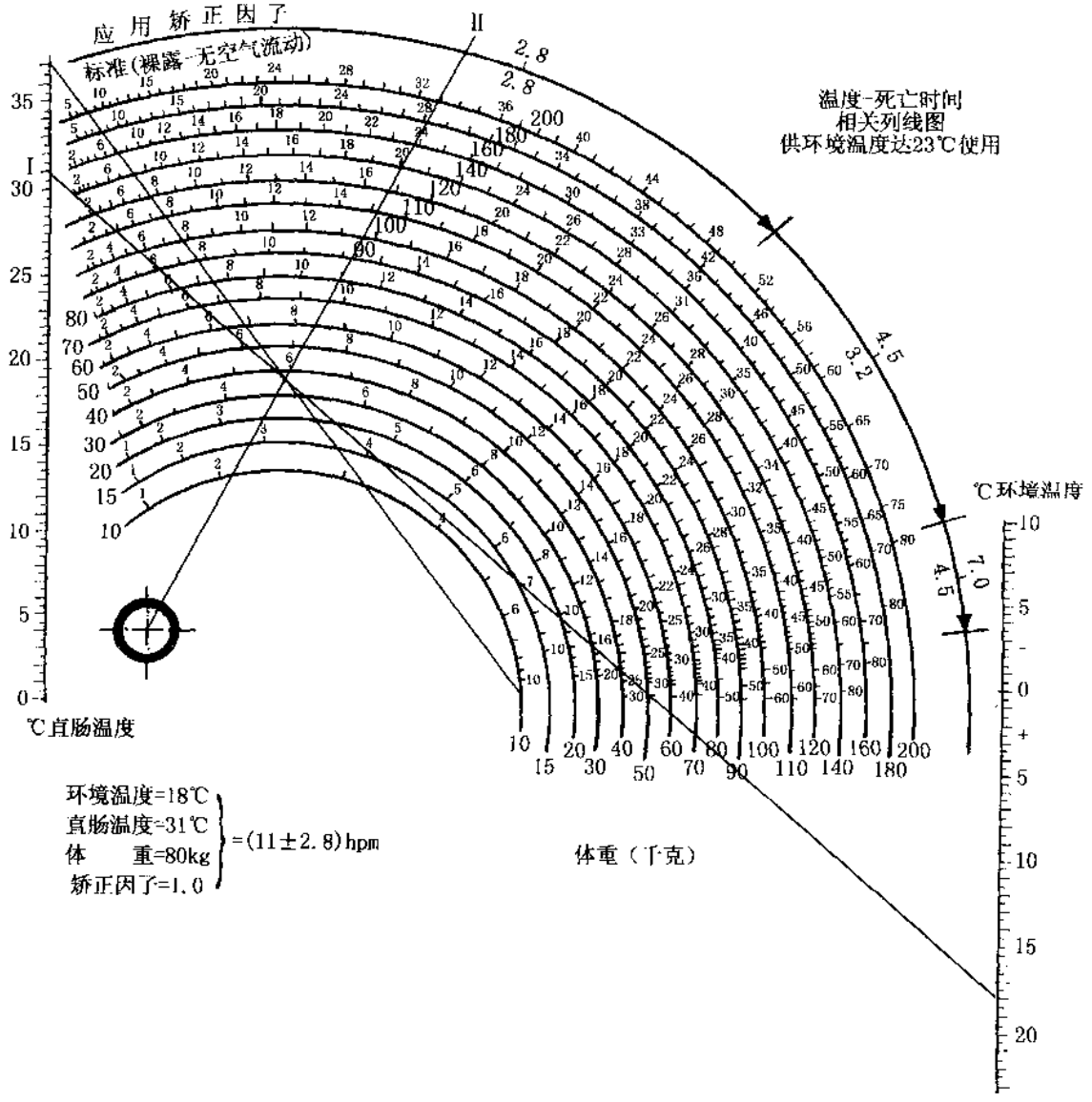


图 4－3　列线图推断死亡时间实例说明

该图由 Henssge C 教授赠给

2. 根据直肠以外器官温度下降曲线推断死亡时间　除直肠以外人们也利用肝、脑、外耳、肌肉和皮肤等器官的温度变化推断死亡时间。脑有坚硬和封闭的颅骨保护，肝脏体积大，位置深，含热多，降温时间相对缓慢均衡。Henssge C 等认为同时测量脑温和直肠温度来推断死亡时间会更精确，如在死后 6.5hpm（hour postmortum）内可根据脑温，在 6.5～10.5 hpm 根据直肠和脑温，在 10.5 hpm 以上根据直

肠温度能得到最佳的死亡时间估计。德国慕尼黑大学法医学研究所常以肝温测量作为一种辅助手段。法国 Baccino E 等对 138 例尸体的双外耳道温度进行了测量，并与直肠温度，玻璃体 K^+ 浓度，脑积液 K^+ 浓度，血液 log Na^+/K^+ 和 log Cl^- 值等方法进行了比较，认为耳温测量推断的死亡时间其精度不及上述多部位综合测量准确，但在一定的温度范围内，与上述单个方法相比，又优于上述单器官温度测量。因而可以考虑在与所研究条件类似的案件使用。我国山东省公安学校王成祥教授研制了脑温推断死亡时间仪，已成为产品在市场出售。该仪器由一根内含温度传感器的长针头，一个内含推断死亡时间程序的单片机及导线组成，通过 A/D 转换器将温度信号转变为数字信号，输入所测的脑温和环境温度后，可以从荧光屏直接读出死亡时间，可在现场使用。但目前尚未见到有关使用情况的研究报道。

3. 影响根据尸冷推断死亡时间准确性的主要因素

(1)环境温度　环境温度变化大，是影响尸体降温速度的最主要因素，如昼夜温差有变化，旷野有风和无风，室内通风状态，雨、雪、潮湿，均影响体表散热的速度。

(2)尸体的状况　如尸体的姿势，尸体暴露表面区域的大小，婴儿、儿童尸冷比成人要快得多，着装状态也影响尸体冷却率，裸尸与着装、有被盖与无被盖在尸冷速度上有明显差别，躯体肥胖人尸温下降比躯体瘦弱的人要慢。

由于尸冷规律的影响因素太多，因此以尸冷推断死亡时间只能做到与实际死亡时间近似的程度。

二、根据肌肉的超生反应推断死亡时间

(一)超生反应

自发性超生活动(spontaneous supravital activity)是指在生命终止后的最早时刻，尸体自发出现的一些活动，如砍头后由于心肌收缩大血管的喷血，落地头颅面部表情肌的运动，肠蠕动，白细胞游走等。

1. 定义　超生反应(supravital reaction)是指个体死亡后，在一定的时期内，尸体的器官和组织能对物理和化学刺激做出功能以及形态上的反应。

2. 超生反应分类　用于死亡时间推断的超生反应包括：①骨骼肌机械刺激性超生反应，如 Zsako 征象，自主肌隆起现象；②骨骼肌电刺激性超生反应，如用方波脉冲电流刺激面部表情肌或躯体四肢肌肉，使之收缩或痉挛等；③虹膜药物刺激性收缩反应，交替使用缩瞳及扩瞳药物可使瞳孔开大和缩小等。

3. 超生反应的原理　个体死亡后，血液循环完全停止，组织和器官在普遍性缺血条件下，经历：①终期(latency period)：以有氧能量产生为特征；②幸存期(survival period)：此期后生命终止，可出现自发性超生活动；③复苏期(resuscitation period)：此期结束后不再具有复苏能力；④超生反应期(supravital period)：组织器官对外来刺激尚做出一定的反应(图 4-4)。在上述时期内，组织、细胞尚具有一定的生命力。超生反应的基础是机体有生命状态时残存的能量代谢。例如，生命状态时所存有的糖原作为一种底物，在死后逐步为进行糖代谢提供能量。死后的第 1 个 10 h 内，组织尚有较高的无氧糖酵解率，可通过糖酵解提供一部分能量。肌肉是超生反应最强的器官，究其原因，其一是肌肉组织仍能在个体死后的一定时间内维持动作电位，细胞膜内外离子浓度差在死后早期尚能存在一定时间；其二是肌球蛋白与肌动蛋白丝仍具有可分离能力，使肌丝的滑动在死后仍有可能；其三是肌肉组织能够在死后以无氧酵解的方式提供能量。此外，生前 ATP 和能量原料的储备，也为收缩的产生提供了条件，上述综合原因使肌肉超生反应性收缩成为可能。

此外，在超生反应期给予机械性刺激可引起肌肉形态学上的改变，如收缩带(contraction band)盘片状变性等改变，而且，这些变化的出现随 PMI 延长而逐渐减弱。

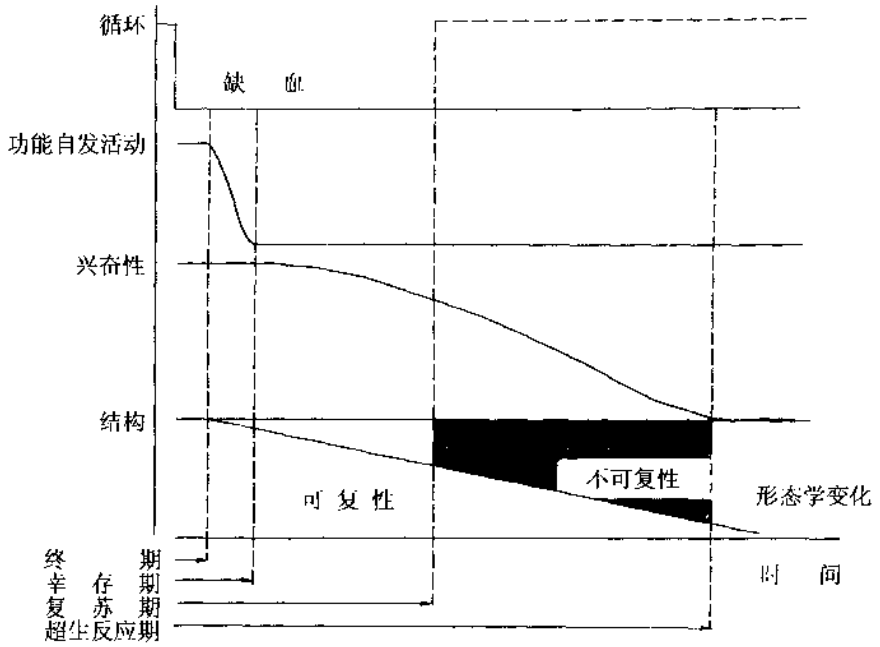


图 4-4 死后持续性全缺血状态下，功能（自发性功能和兴奋性）和结构变化的过程

此图源于 C. Henssge《早期死亡时间推断》

（二）超生反应在死亡时间推断中的应用

1. 根据骨骼肌对机械性刺激的兴奋性推断死亡时间 骨骼肌对机械性刺激的超生反应现象包括以下 2 种。

Zsako 征象（Zsako's phenomenon）：又称腱反射（tandon reaction）或 Zsakosches 腱反射（Zsakosches - tendon phenomenon），首次由 Zsako（1916 年）提出。用反射锤敲击股四头肌下中 1/3 交界处（距髌骨四指宽度或距髌骨约 10 cm 处），会产生向着髌骨方向的整块肌肉收缩运动。Zsako 征象仅出现在死后最早时期，最长达 2.5 hpm，平均为 1.5 hpm。

自主肌收缩（idiomuscular contraction，IMC）：又称自主肌隆起（idiomuscular pad）或自主肌根［idiomuskulaere wulst（德文），IMW］。用钝性刀背横向敲击或砍向肱二头肌，与刀背接触处形成隆起（棱形状或手指样突起）。自主肌收缩持续时间的长短根据研究者使用的方式不同，刺激的肌肉不同而有区别，以肱二头肌为例，最短在 1.5 hpm，最长在 13 hpm 以内，一般以 8 hpm 以内多见。与 Zsako 征象不同的是，自主肌根为肌肉的局部性收缩。

Joachim（1988 年）通过对 Dotzauer 研究的回顾，将对机械性刺激的兴奋性分为 3 个时期或 3 种程度。

第一期：整个肌肉收缩，即出现 Zsako 现象，此期持续时间在 1.5～2.5 hpm 以内。

第二期：肌肉出现收缩强度高和典型的可复性自主肌隆起，在 4～5 hpm 出现。此期动作电位传播慢，持续时间 0.7 s。

第三期：出现微弱的自主肌隆起现象，最长的可达 24 h，一般常见于 8～13 hpm。

三角肌及大腿部等其他肌肉也可诱发自主肌隆起，但为了使判断标准一致，多选择肱二头肌。上述 3 期的表现可作为推断死亡时间的重要参数之一用于法医实际检案。

自主肌隆起的强度随 PMI 延长逐渐减弱，与肌僵形成有关。因为不同的能量储备状态使各个肌纤

维具有不同的肌僵形成时间点，所以一块肌肉的各个肌纤维不会在同时形成肌僵。随着 PMI 延长，越来越多的肌纤维各自形成肌僵，故整块肌肉的收缩越来越弱，最后仅出现肉眼难于察觉的肌纤维颤动。当 PMI 达到一定值时，肌肉 ATP 的浓度显著下降，大多数肌纤维形成肌僵，同样强度的刺激便不再唤起肌肉自主收缩反应。

Zsako 征象和自主肌隆起的实用法医学意义：这些只有在死亡最早时期诱发的尸体现象，标志尸体处在死亡早期阶段，代表了一定的时间范围，就目前的研究手段而言，超过 1.5～2.5 hpm 的尸体不会出现 Zsako 征象，超过 8～13 h 不会出现自主肌隆起，但在这个限度以内会因尸体的差异有时间长短的区别。一般来讲，上述提及的机械性兴奋性的 3 种程度所表示的时间，可以用作死亡时间推断的参考。

2. 根据骨骼肌对电刺激的兴奋性推断死亡时间　继 Galvani L（1780 年）发现“动物电”（animal electricity）现象以来，人类在 19 世纪对死亡后骨骼肌的电兴奋性（electrical excitability of skeletal muscle postmortem）进行了大量的研究。那时研究的目的主要是排除假死，在当时只有那些电兴奋性丧失的尸体才可以被埋葬。以死亡时间推断为目的的研究开始于 1800 年，根据 Nysten（1811 年）当时研究的结果，直接刺激肌肉其兴奋性甚至可持续到 26 hpm。他还发现：左心室仅有短暂的兴奋性，肠和胃持续 45 min，右心室 3 h，食管 1.5 h，虹膜 1.75 h，躯干肌肉兴奋性＜下肢＜上肢。以现今的观点，死后肌肉电兴奋与收缩的主要基础可归结为：①收缩的强度；②刺激电流的传播。因此用骨骼肌电兴奋性推断死亡时间的主要方式为 2 种：一是根据肌肉的收缩强度；另一是根据刺激电流阈值的变化。

1）根据肌肉的收缩强度推断死亡时间　Popwassilow 和 Palm 根据电刺激后收缩强度和范围将面部肌肉的直接兴奋性分为 3 级，见表 4－1。Klein A 和 Klein S 使用另外一种与 Popwassilow 不完全相同的方波脉冲电流刺激将肌肉收缩强度分为Ⅰ～Ⅵ个等级（表 4－2）。Henssge C 则将 Klein A 和 Klein S 的六级分类引入他所创造的多参数死亡时间推断方法和电子计算机程序，使之成为案发现场推断死亡时间的重要手段。

表 4－1　Popwassilow 和 Palm 的肌肉收缩强度分级与死亡时间的关系

收缩强度	收缩范围	死后时间（hpm）
＋＋＋	全部面部表情肌	0～2.5
＋＋	眼轮匝肌	1～5
＋	肌纤维抽搐	2～6

表 4－2　Klein A 和 Klein S 的肌肉收缩强度分级与 Popwassilow 和 Palm 分级的比较

	Klein A 和 Klein S 分级			Popwassilow 和 Palm 分级	
	X(h)*	95% 范围(h)		X(h)*	分散范围(h)
眼轮匝肌					
Ⅰ 上眼睑鼻侧部	13.55	5～22	＋＋＋	4.25	2～8
Ⅱ 1/3～2/3 下眼睑	10.5	5～11			
Ⅲ 整个上眼睑	8.25	3.5～13	＋＋	2.25	1～5
Ⅳ 加下眼睑	5.5	3～8			
Ⅴ 加颧肌	4.5	2～7	＋	1.25	0～2.5
Ⅵ 加额肌	3.5	1～6			
口轮匝肌	7	3～11		3.25	2～6

＊X(h)表示平均时间

由于肌肉的间接兴奋性，即刺激运动神经引起的死后肌肉收缩，持续时间短（<1.5 hpm），应用价值不大，在此不做重点论述。

2）根据刺激电流阈值变化及肌电图变化推断死亡时间　研究发现，随着死后时间延长，引起肌肉收缩的电流阈值也增加。Joachim 和 Feldmann（1980 年）使用 1s 间距的方波脉冲对 11 具尸体研究，调查死后间隔为2～15 hpm。结果发现，引发肌肉收缩的电流阈值与死后时间呈线性关系，得出推断死亡时间的计算公式：$t=(a_0-a^*)/b$，其中 t = 死亡时间（min）；a_0 = 首次测定时电流阈值对数；a^* = 死亡当时的原始电流阈值对数；b = 回归斜率。

Madea B 在 20 具尸体上测得 a = －1.748，b = 0.012 9。其推断出的死亡时间的 95% 可信限为 ±3.3 h，认为电流阈值变化可用于推断死后 10 h 之内的尸体死亡时间。

此外，Madea B 和 Henssge C 对手部肌肉收缩的肌电图变化进行了研究（表 4－3）。结果发现在死后第 1 小时出现双峰，以后则为单峰。当电刺激（1s）时，肌肉出现结束收缩和开始收缩 2 个峰，即双峰图。在死亡刚刚出现时，结束收缩比开始收缩具有更大的力量。以后，随着结束收缩的力度下降，结束收缩峰融入开始收缩峰，肌肉收缩便成为单峰了。在电流强度 80 mA 时，单峰收缩可在 5 hpm 时见到。肌肉单峰收缩随 PMI 的延长逐步减弱。

电流阈值测量和肌电图研究需使用专门仪器，多数法医学研究机构不具备，也难以在现场实施，因此在实际应用方面受到限制。

表 4－3　Madea B 和 Henssge C 用不同强度电流刺激鱼际肌时单峰肌电图持续时间的变化

J（mA）	右鱼际肌			左鱼际肌		
	N（例数）	平均值 x（min）	分散范围（min）	N（例数）	平均值 x（min）	分散范围（min）
2	9	214	135～405	12	203	110～330
4	16	227	150～405	13	230	110～420
8	19	255	160～520	18	252	140～420
16	22	275	180～545	20	254	140～420
32	23	295	180～575	21	282	140～495
64	26	316	180～605	20	290	140～495
80	26	322	180～605	18	289	165～495

3. 根据虹膜对药物和对电刺激的反应推断死亡时间　与横纹肌相比，虹膜平滑肌对电和药物的刺激具有更长的超生兴奋性反应。如 Klein A 和 Klein S（1978 年）曾以 18 种不同的药物浓度，对 3 千多例尸体的瞳孔进行了研究，发现药物作用在 5～30 min 后出现，持续时间至少 1 h（表 4－4）。其中瞳孔对乙酰胆碱，肾上腺素/去甲肾上腺素的反应时间最长，如对乙酰胆碱的反应甚至可达 46 hpm。研究认为，瞳孔对药物具有超敏感性。

Klein A 和 Klein S 同时还对虹膜的电刺激反应做了研究，将电极刺入眼睛的前房，瞳孔收缩反应可出现于 11 hpm，瞳孔的收缩和向电极移位可出现于 16 hpm，单纯虹膜向电极刺入处移位最迟可见于 56 hpm。

死后瞳孔对药物反应的时间规律，被综合参数死亡时间推断法和电子计算机死亡时间推断程序采用。

表 4－4 虹膜对药物刺激的反应性与死后时间的关系

	兴奋性持续时间(hpm)	测量尸体数目	
		结膜下注射	前房注射
扩瞳药			
去甲肾上腺素/肾上腺素(1.0%)	14～16	573	737
托品酰氨(0.25%)	5～30	307	320
阿托品(0.5～1%)	3～11	131	145
缩瞳药			
乙酰胆碱(5.0%)	14～46	586	721

三、根据各种尸体现象综合推断死亡时间

同尸冷在推断死亡时间中的重要作用一样，根据其他各种尸体现象来推断死亡时间，仍是法医实际工作中经常使用的主要手段之一。我国法医工作者对尸斑、尸僵、尸冷、角膜浑浊程度、腐败等早期和晚期尸体现象，根据胃内容物消化状态等在推断死亡时间中的作用方面做了大量研究工作，如近年来夏元飞，王卫华等有关胃内容物推断死亡时间的报道，证明该方法目前对实际案例分析仍有一定的价值。

四、根据玻璃体液钾离子浓度变化推断死亡时间

眼球玻璃体液死后变化受外界因素影响较小，其各种成分的变化与 PMI 的关系相对稳定。Pau 首先发现了玻璃体液的钾离子浓度为 180～190 mg/L，而靠近视网膜的玻璃体层的浓度为 1 g/L 的重要现象。这一现象说明玻璃体相当于体液，而玻璃体层相当于组织，为后来的研究提供了基础。许多研究均表明，玻璃体液钾离子浓度与死亡时间具有一定的正相关性，因此适用于死亡时间推断的研究。Sturner 经过对 54 例 108 hpm 的尸体玻璃体的测量，建立了 $PMI = 7.14 \times K^{+} - 39.1$ 的计算公式(95%可信限范围为 ±9.5h)。Adjutantis 和 Coutselinis 证实了不同个体间玻璃体钾离子浓度存在差异，认为死亡时刻的钾离子浓度为 3.4 mmol/L。按此方法，死亡时间推断在第 1 个 12 h 内其精度可达 ±1.1 h。然而，由于不同学者在研究中的条件、方法和尸体条件等因素不同，所取得的结果相差较大。此外，玻璃体液 $[K^{+}]$ 与死亡时间并非呈明显的线性关系，因而使这些结果的应用受到一定的限制。

最近 Munoz JI(2001 年)提出公式 $PMI(h) = 2.58[K^{+}] - 9.30$。非医院死亡的尸体公式为 $PMI(h) = 3.92[K^{+}] - 19.04$。他认为虽然所有的作者可通过直接使用以前的公式获得 PMI，然而因其结果不够准确，可导致错误的推断，因此必须获得一种新的方程，即 $[K^{+}]$ 作为非依赖变量，PMI 作为依赖变量。他们研究获得回归线的数据是 $[K^{+}] = 5.35 + 0.22$ PMI，通过改变变量获得的公式为 $PMI = 2.58[K^{+}] - 9.30$。而非在医院死亡的状况，获得的回归线的数据是 $[K^{+}] = 5.60 + 0.17$ PMI，通过改变变量获得的公式为 $PMI = 3.92[K^{+}] - 19.04$。这一新的以玻璃体 $[K^{+}]$ 推断死亡时间的公式有待人们在实际工作中使用和验证。

五、根据 DNA 降解程度推断死亡时间

研究者发现，机体死亡后，细胞核大分子 DNA 的含量随死后时间的延长而减少，与 PMI 呈线性关

系，因此可用于推断死亡时间。

用于大分子 DNA 定量分析来推断死亡时间的方法主要有 2 种：一是流式细胞仪（FCM）检测技术；另一个是 DNA 组化定量分析技术。后者是指经过 Feulgen 反应，测定组织细胞核 DNA 染色深度，确定组织中大分子 DNA 含量的一种技术，包括显微分光光度计（MSP）和计算机图像分析技术。FCM 和组化定量分析技术均是利用染料对大分子 DNA 有特殊亲和性的特点。在样本的处理上，后者因可直接使用普通的石蜡切片，而更加经济、简单。

Alder 和 Beckhove 在 1971 年采用生化方法结合细胞分光光度计，测定了牛死后心肌细胞核大分子 DNA 含量，发现在不同条件下 DNA 降解的速度不同，低温可以防止 DNA 的降解。此后，类似的研究不断出现。Cina SJ 在 1994 年使用流式细胞仪研究了人脾组织后，认为大分子 DNA 含量变化与死亡时间呈规律关系。此后，Nunno Nunzio RD、王慧君、刘良等对 Cina 的研究进行了验证，基本认同了 Cina 的研究结果，但提出在选择检测的组织时，应考虑其自溶的速度。

为了使这一研究工作更快成为实际检案的工具，建议今后的研究要考虑：①首先选用主质细胞多，但自溶速度较慢，个体差异较小的组织作检材；②在实验设计时尽量减少实验室和操作人员之间的差异；③使用同一染色试剂及同一染色技术，同一分析软件，使不同实验室的研究结果具有可比性；④完善计算机图像分析系统中图像摄取的各个环节，将图像分辨及分析的精度达到最佳状态。⑤考虑死后组织体积变化的校正因素。

六、早期死亡时间推断综合参数法

死亡时间推断综合参数法是以尸冷（直肠温度）温度测量为基础，结合尸斑、尸僵、肌肉的兴奋性等参数，以尸体的体重、所处的环境、衣着及被盖状况等作为矫正值来推断早期死亡时间。这一方法包括直肠温度列线图、矫正体重参数表和尸体现象检测 3 个部分。由德国埃森大学法医学研究所所长 Henssge C 教授创造。该方法的特点是综合了目前能在现场获得的所有早期尸体现象，进行表格化和计算机智能化处理，能在案发现场或室内，徒手或使用便携式计算机快速得出死亡时间，因此特别适用于公安刑侦案例，是目前世界上用于早期死亡时间推断的最好方法，并已在世界上许多国家得到推广和应用。

（一）综合参数内容

1. 直肠温度列线图（nomogram） 列线图计算时间的方法与本章第二节介绍的一致，可单独使用，也可与其他检测表格联用，如矫正参数表，进行推断和精确推断死亡时间。该方法是推断死亡时间综合参数法的最基本的方法。

2. 矫正参数表 尸冷受许多因素的影响，如在水中可以加速，或在着衣及盖被情况下延缓，因此要考虑矫正参数，通常以矫正尸体的重量体现矫正结果。矫正参数或矫正值是从尸体着装条件、空气流动情况、尸体所处状态（水中或干燥）等多个变异参数，经大量实践研究所得出的数据。矫正参数表是将这些矫正值归纳在一起的一种表格（表 4－5，表 4－6），人们可以直接从表格里找到所要的矫正值。例如：当尸体身着 3 层衣服的情况下，从矫正参数表读出的矫正值为 1.3，将原尸重 70 kg × 1.3 = 90 kg，矫正后的尸重为 90 kg，在列线图 90 kg 处读数，而不是在 70 kg 处读数，死亡时间相应延长了 3.5 h。

表4-5 体重矫正因子参照表Ⅰ(参考尸体重量:70 kg)

干衣着/被盖	暴露在空气中	矫正参数	全湿衣着/被盖尸体表面湿	暴露在空气中	暴露在水中
		0.35	裸尸		流水
		0.5	裸尸		止水
		0.7	裸尸	流动空气	
		0.7	1~2层薄衣	流动空气	
裸尸	流动空气	0.75			
1~2层薄衣	流动空气	0.9	2至多层厚衣	流动空气	
裸尸	静止空气	1.0			
1~2层薄衣	静止空气	1.1	2层厚衣	静止空气	
2~3层薄衣	静止空气	1.2	多层厚衣	静止空气	
1~2层厚衣	流动/静止空气	1.2			
3~4层薄衣	流动/静止空气	1.3			
多层薄衣/厚衣	不受空气影响	1.4			
		…			
厚毛织品衣类	不受空气影响	1.8			
厚毛织品衣类加被盖	不受空气影响	2.4			
		2.8			

表4-6 体重矫正因子参照表Ⅱ(参考尸体重量:大于或小于70 kg)

4	6	8	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150
									1.3								
1.6	1.6	1.6	1.6	1.5					1.4					1.3	1.2	1.2	1.2
2.1	2.1	2.0	2.0	1.9	1.8				1.6				1.4	1.4	1.4	1.3	1.3
2.7	2.7	2.6	2.5	2.3	2.2	2.1	2.0		1.8			1.6	1.6	1.6	1.5	1.4	1.4
3.5	3.4	3.3	3.2	2.8	2.6	2.4	2.3		2.0		1.8	1.8	1.7	1.6	1.6	1.5	1.5
4.5	4.3	4.1	3.9	3.4	3.0	2.8	2.6	2.4	2.2	2.1	2.0	1.9	1.8	1.7	1.7	1.6	1.6
5.7	5.3	5.0	4.8	4.0	3.5	3.2	2.9	2.7	2.4	2.3	2.2	2.1	1.9	1.9	1.8	1.7	1.6
7.1	6.6	6.2	5.8	4.7	4.0	3.6	3.2	2.9	2.6	2.5	2.3	2.2	2.1	2.0	1.9	1.8	1.7
8.8	8.1	7.5	7.0	5.5	4.6	3.9	3.5	3.2	2.8	2.1	2.5	2.3	2.2	2.0	1.9	1.8	1.7

附注:该表仅列体重(表第一横行)和矫正参数值。以70 kg体重,尸体不同着装状态所得的各矫正参数(表4-5)为参照标准。同一尸重下属的4~8个矫正值,属有意义的矫正值被列出。如70 kg体重时,根据表4-5着装状态获得的矫正值是1.6,同一条件下20 kg尸重所获得的矫正值是1.9,结果是矫正后的体重应为38(40) kg。

3. 早期尸体现象检测表 早期尸体现象检测表(表4-7)是在列线图不足以推断更为早期的死亡时间(5~8 hpm以内)时,经过对其他尸体早期现象检测,特别是肌肉超生反应检测所得出的结果,综合对早期死亡时间做出推断的评判表。以yes(是)和no(否)2种回答方式代表一定的死后时间范围,以

符号×作为选定的答案标记。该表由尸斑、尸僵、肌肉的超生反应、电兴奋性、机械兴奋性、药物兴奋性等主要参数(共20项指标)构成。

表4-7 早期尸体现象检测表

检查项目	日期			时间	
尸斑					
开始建立	是	θ		<3	否
融合	是	>1		<4	否
最大范围	是 ×	>3		<16	否
指压	否	>1		<20 ×	是
尸僵					
开始建立	是	>0.5		<7	否
最大强度	是 ×	>2		<20	否
电刺激兴奋性					
Ⅰ上眼睑鼻侧部	否	>5		<22	是
Ⅱ1/3~2/3下眼睑	否	>5		<16	是
Ⅲ全部上眼睑	否	>3.5		<13	是
Ⅳ加下眼睑	否	>3		<8 ×	是
Ⅴ加颧肌	否 ×	>2		<7	是
Ⅵ加额肌	否	>1		<6	是
口轮匝肌	否	>3		<11	是
列线图					
常规					
调整					
自主肌收缩	否	>1.5		<2.5	是 Zsako's征象
移动尸体后	否	>2		<6	是 尸斑完全消退
尸斑完全消退					
尸僵重建	否	>2		<8 ×	是 尸僵重建
阿托品/环戊胺*	否 ×	>3		<10	是 阿托品/环戊胺*
移动尸体后	否	>4		<13	是 自主肌收缩
尸斑不完全消退				<24	是 移动尸体后
Mydriaticum Roche®*	否	>5			尸斑不完全消退
乙酰胆碱	否	>14		<30 ×	是 Mydriaticum Roche®*
				<46	是 乙酰胆碱
结果		>4.5		<8	hpm
死亡时间	范围	02:00	和	05:30	之间

说明:环戊胺*是一种拟交感药;mydriaticum roche®是一种德国常用的扩瞳处方药物

（1）检测表主要内容

1）尸斑　分尸斑开始，尸斑融合，最大尸斑形成，尸斑按压后是否消退等指标。这些指标是参考 Mallach 所设计的标准。

尸斑开始：平均值为 0.75 hpm（标准差 SD =0.5 hpm）。

尸斑融合：平均值为 2.5 hpm（标准差 SD =1.0 hpm）。

最大范围尸斑形成：平均值为 9.5 hpm（标准差 SD =4.5 hpm）。

大拇指按压消退：平均值为 5.5 hpm（标准差 SD =6.0 hpm）。

完全消退：平均值为 3.75 hpm（标准差 SD =1.0 hpm）。

不完全消退：平均值为 11.0 hpm（标准差 SD =4.5 hpm）。

2）尸僵　由尸僵开始，最大强度尸僵形成，尸僵再建等指标构成。

尸僵开始：平均值为 3 hpm（标准差 SD =2.0 hpm）。

最大强度尸僵形成：平均值为 8 hpm（标准差 SD =1.0 hpm）。

3）肌肉的超生反应　电兴奋性：使用电刺激仪，给予一个标准的方波脉冲电流，刺激面部表情肌，根据收缩的范围分 Ⅰ ~ Ⅵ个等级（图 4 - 5）。

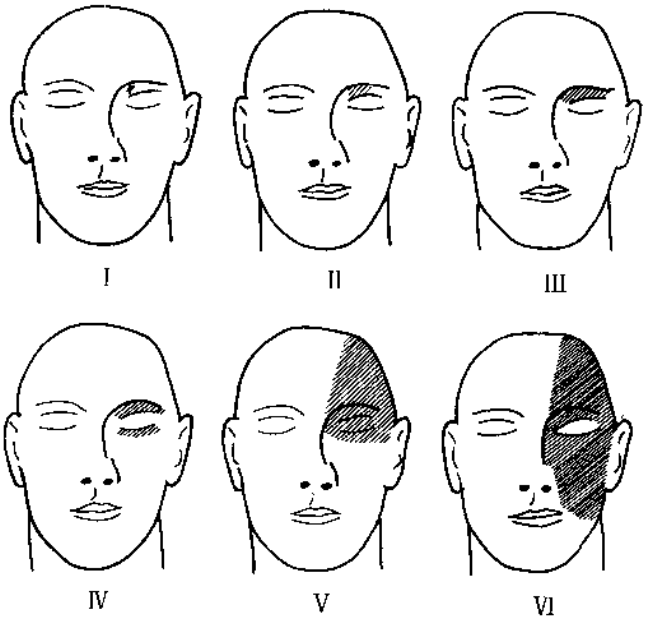


图 4 - 5　面部肌肉电刺激兴奋性的分级（Ⅰ ~ Ⅵ级）

此图源于 Henssge C《早期死亡时间推断》

机械兴奋性：以肱二头肌是否可诱发 Zsako 现象和自主肌隆起为指标。自主肌隆起最长可达死后 8 h。

药物兴奋性：以反复交替使用扩瞳和缩瞳药物观察虹膜对药物的反应。根据虹膜对不同药物反应时间的长短，对应相应的时间。

（2）使用方法　举例说明（表 4 - 7）：例 1，表中最大范围尸斑形成 = 是，表示死亡时间大于 3 hpm，指压消退 = 是，表示死亡时间小于 20 hpm，因此，以尸斑为参数的测量表示的死亡时间范围为 3 ~ 20 hpm。

尸僵一栏内，最大强度尸僵形成 = 是，表明以尸僵为参数的死亡时间大于 2 hpm。

电兴奋性一栏，Ⅳ = 是，表示死亡时间小于 8 hpm，Ⅴ = 否，表示死亡时间大于 2 hpm。

因此，以电刺激兴奋性为参数的测量表示的死亡时间范围为 2 ~ 8 hpm。

使用列线图获得的死亡时间数据是：4.5（下限）和 10.1（上限）。上下限数据是根据列线图查出的死亡时间是 7.3 ±2.8 得来。下限用所获上述下限的最高值调整，上限用所测上述上限的最低值调整，上述各因子的下限最高值是 4.5，上限最低值是 8，经调整后死亡时间上下限的最终范围为 4.5 ~ 8 hpm（参见图4 - 3）。

尸僵重建 = 是，表示死亡时间小于 8 hpm。

虹膜对药物反应 = 否，表示死亡时间大于 3 hpm。

瞳孔对 mydriaticum roche 反应 = 是，表示死亡时间小于 30 hpm。

最后结果是：死亡时间为 4.5 ~ 8 hpm。

推测实际死亡时间大约在：某年某月 2.00 ~ 5.30 之间。

七、死亡时间推断电子计算机处理的程序

死亡时间推断程序是将上述图表输入计算机并经程序处理而成，法医师只需按计算机弹出的询问框以及图表要求输入检测结果，计算机操作后自动得出推断死亡时间的结果，十分快捷，简便。该程序已在国际市场出售。我国第一军医大学病理学教研室法医学组王慧君教授拥有 Henssge C 教授赠送的上述所有表格、计算机软件程序以及完成相应检测如肌肉超生反应检测等相关仪器，能为上述有关问题提供咨询。

八、国内推断早期死亡时间研究进展

有关我国在推断死亡时间研究进展和新技术，公安部二所麻永昌（1995 年）在《我国推断死亡时间十年研究进展》一文中已有详细的介绍。近 5 年来我国法医工作者在法庭昆虫学、超生反应、内皮细胞活性、核仁区嗜银蛋白形态学变化、肌肉酶活性、骨骼肌运动终板乙酰胆碱酯酶活性、玻璃体液化学成分、肝细胞白溶超微结构、家兔死后红细胞内钾离子含量、尸体腐败程度、植物生长根系规律、胃内容物变化差异、死后细胞 DNA 降解程度、脑组织 ATP 含量等变化与死亡时间推断方面做了大量工作，提供了一些有意义的参考数据。

我国对早期死亡时间推断的研究，主要放在利用尸冷以外的其他方法方面，但这些研究，仅处于实验室阶段。

尽管我国有关单位做了不少工作，如 1984 年我国公安部组织八省市（区）公安厅（局）尸温研究小组研究建立的 3 种不同外界条件下推断死亡时间的一元回归方程式，但公式的可信度及对死亡时间推断的精度尚嫌不足。特别是我国南北温差大，季节差别大，需要将上述影响因素作为校正参数加以研究，设计出适合我国不同区域的实用方法。

迄今为止，世界上仍没有一种推断死亡时间的方法，完善到完全准确无误。研究表明死亡时间推断时，考虑的参数越多，对死亡时间的推断越精确。因此，如何尽量采用多参数因素分析，又使其方法简单、快捷、应用方便，仍然是目前的研究任务。

参 考 文 献

1 Knight B. Forensic Pathology. 2nd. London. Sydney. Auckland Co - published in the USA by Oxford University Press, Inc. New York: Edward Arnold, 1997,51 ~ 94

2 Henssge C, Knight B, Krompecher T, *et al*. The estimation of the time since death in the early postmor-

tem period. London. Boston. Melbourne. Auckland: Edward Arnold, 1995,138 ~ 171
3 郭景元主编. 现代法医学. 北京: 科学出版社,2000
4 吴家敭主编. 法医学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,2000
5 祝家镇主编. 法医病理学. 第2版. 北京:人民卫生出版社,1999
6 Henssge C, Althaus L, Bolt J, *et al*. Experience with a compound method for estimating the time since death. Ⅰ. Rectal temperature nomogram for time since death. Int J Legal Med, 2000, 113(6):303 ~ 319
7 Henssge C. Death time estimation in case work. Ⅰ. The rectal temperature time of death nomogram. Forensic Sci Int, 1988,38:209 ~ 236
8 Henssge C, Maeda B, Gallenkenper E. Death time estimation in case work. Ⅱ. Intergration of different method. Forensic Sci Int, 1988,39:77 ~ 87
9 Madea B. Importance of supravitality in forensic medicine. Forensic Sci Int, 1994, 69:221 ~ 241
10 McDowall KL, Lenihan DV, Busuttil, *et al*. The use of absolute refractory period in the estimation of early postmortem interval. Forensic Sci Int, 1998, 91(3):163 ~ 170
11 马建中,季少岩,贾静涛. 依据 Marshall 和 Hoare 的数学模型推断死亡时间的新方法. 中国法医学杂志,1993,8(1):27 ~ 31
12 王慧君,Hoppe B,Henssge C. 超生反应阶段骨骼肌机械性损伤的形态学研究. 中国法医学杂志,1997,12 (4): 193
13 王慧君,Hoppe B,Henssge C. 超生反应阶段骨骼肌电损伤的形态学研究. 中国法医学杂志,1998,13 (1): 1
14 Baccino E ,Saint Martin L D, Schuliar Y, *et al*. Outer ear temperature and time of death. Forensic Sci Int, 1996,83:133 ~ 146
15 Lange N,Swearer S,Sturner WQ. Human postmortem interval estimation from vitreous potassium:an analysis of original data from six different studies. Forensic Sci Int,1994,66(3):159 ~ 174
16 Munoz JI, Suarez – penaranda JM, Otero XL, *et al*. A New perspective in the estimation of postmortem interval (PMI) based on vitreous. J Forensic Sci, 2001,46(2):209 ~ 214
17 Pounder DJ, Carson DO, Johnston K, *et al*. Electrolyte concentration differences between left and right vitreous humor samples. J Forensic Sci, 1998, 43(3):604 ~ 607
18 Lange N, Swearer S, Sturner WQ. Human postmortem interval estimation from vitreous potassium: an analys original data from six different studies. Forensic Sci Int, 1994, 66(3):159 ~ 174
19 Cina SJ. Flow cytomertric evalution of DNA degradation; a predictor of postmortem interval? Am J Forensic Med Pathol,1994,15(4):300 ~ 302
20 Nunno Nunzio RD, Costantinides F, Bernasconi P, *et al*. Is flow cytometric evaluation of DNA degradation a reliable method to investigate the early postmortem period? The American Journal of Forensic Medicine and Pathology, 1998, 19(1):50 ~ 53
21 Di Nunno NR, Costantinides F, Bernasconi P, *et al*. Is flow cytometric evaluation of DNA degradation a reliable method to investigate the early postmortem period? Am J Forensic Med Pathol, 1998;19(1): 50 ~ 53
22 涂彬,孔祥麟,阎祖康,等. 大鼠死后肝细胞 DNA 的组织化学定量研究. 法医学杂志,1994,10(4): 149 ~ 152
23 涂彬,孔祥麟. DNA 组织化学测定技术与死亡时间. 法医学杂志,1994,10(2):79 ~ 81
24 徐根兴. 定量细胞学和细胞化学技术. 长春:吉林科学技术出版社,1993,75 ~ 106

25 Pignatelli D, *et al*. DNA quantification and ploidy patterns in human adrenocortical neoplasms. Endocr Res,1998, 24(3~4):869~874

26 麻永昌. 我国推断死亡时间十年研究进展. 中国法医学杂志, 1995,10(增刊):14~17

27 竞花兰,陈玉川,程海鹰,等. 核仁组成区嗜银蛋白形态改变与死亡时间的关系. 法医学杂志, 1996,12(3):165~166

28 竞花兰,陈玉川,程海鹰,等. 尸体肝细胞 AgNOR 不同时间形态改变与死亡时间的关系. 中国法医学杂志, 1996,11(4):200~203

29 李剑波,刘云志,张佐才,等. 玻璃体液化学成分的检测及其意义. 中国法医学杂志, 1997,12(4):198~200

30 孙大宏,廖志刚,李琼英. 大鼠死后不同时间肌肉酶组织化学观察. 法律与医学杂志,1999,6(3):102~104

31 陈鳌,李永宏. 脑组织 ATP 含量与死亡时间关系的初步研究. 法医学杂志,1997,13(3):138~139

32 周红章,杨玉璞,任嘉诚,等. 北京地区法庭昆虫学研究. 中国法医学杂志, 1997,12(2):79~83

33 王卫华,孙爱菊,范玉峰. 胃内容物推断死亡时间误差分析(附一例报告). 法律与医学杂志,2000,7(1):32

34 徐长苗,程建波,封国兴. 法庭昆虫学在死亡时间推断中应用 3 例. 中国法医学杂志,1999,14(3):172~173

35 徐长苗,张海松,钱松富. 温度对尸体角膜内皮细胞活性率的特征参数影响. 中国法医学杂志,1999,14(1):33~34

36 王慧君,刘冰,张艳,等. 死后大鼠骨骼肌运动终板和肌纤维酶、免疫组化研究. 法医学杂志,1999,15(3):135~139

37 许卫平,陈方明. 利用植物根系生长规律推断死亡时间一例. 中国法医学杂志, 1997,12(1):48

38 陈禄仕. 尸体腐败程度与死亡经过时间的实验研究. 法医学杂志, 1999,15(4):196~198

39 古建平,刘爱兵,宋梅,等. 家兔死后红细胞内钾钠离子含量与死亡时间关系. 法医学杂志, 1999,15(4):199~200

40 秦志强,龚毓昌,俞永富. 兔死后肝细胞自溶的超微结构观察. 法医学杂志, 1998,14(4):207~208

41 刘良,张力,刘亚玲,等. 大鼠脑细胞 DNA 含量与死亡时间关系的图像分析. 中国法医学杂志,2000,15(1):1~3

第五章 法庭昆虫学

王江峰

第一节 绪论

一、法庭昆虫学的定义和内容

法庭昆虫学(forensic entomology)主要是应用昆虫学的理论与技术,研究并解决法医学实践中的有关问题,从而为刑事侦查提供线索,为司法审判提供证据的一门科学。它是一门新兴学科。

广义的法庭昆虫学包含3个方面:①与建筑物害虫、居室害虫、庭园害虫有关的部分,邻里间因施用农药而引起的纠纷亦包括在内;②与仓储害虫有关的部分,因商品中存在不应有的昆虫而引起的纠纷亦包括在内;③与谋杀、自杀、强奸、虐待等有关的部分,也即利用昆虫学知识对暴力犯罪、意外死亡等做出科学的分析判断,为侦查提供线索,为审判提供证据。以上三方面中,前两者为正确处理民事纠纷提供科学证据,均与城市昆虫学(urban entomology)关系密切;后者又称犯罪医学昆虫学(medicocriminal entomology),其基本任务是澄清事实真相,揭露罪犯,证实无辜,它是法庭昆虫学的主体,一般所谓法庭昆虫学即专指这一部分。

二、法庭昆虫学的主要理论依据

根据昆虫学知识可以对尸体的死亡时间、死亡地点、死亡原因及其他事实真相进行分析判断,其理论依据的要点可列举如下。

(1)在自然界中,昆虫不仅取食动物的尸体,而且在尸体上、尸体中不断活动,帮助了大量微生物进入尸体,加快其崩解。对于人类尸体亦如此。这是法庭昆虫学的基础。

(2)昆虫常常是尸体的首先发现者,特别是尸体被藏起来以后。昆虫到处存在,它们的感觉灵敏,活动能力强,会很快抵达尸体。通常在户外的死亡现场,丽蝇一般在死亡发生数分钟内即开始在尸体上

产卵。

(3)昆虫是变温动物,生长发育速率取决于环境,根据环境温度等条件可以比较准确地计算在尸体或附近的昆虫的发育历期,从而推断死者的死亡时间。

(4)昆虫种类繁多,要求、反应各异,不少种类昆虫和节肢动物常常有规律地出现于尸体上,呈现一定的演替。这种演替规律可以用来推断尸体的死亡时间。

(5)各种昆虫都有其一定的地理分布范围和适生场所,因而尸体上的昆虫种类可为推断死亡的地点、尸体曾否被转移等提供科学依据。

(6)昆虫的发生及其行为都有一定的规律,这些规律常能为案情判断提供重要依据。

(7)化学药品通过食物链(food chains)而转移,甚至富集。毒物致死剂量-尸体内脏、肌肉内毒物含量-尸体上蝇类幼虫或蛹内毒物含量三者之间,往往呈现一定的数量关系,从而可以作为判断死亡原因的重要根据。

三、法庭昆虫学的发展及现状

法庭昆虫学的发展历史可追溯到我国的宋代,在宋慈的《洗冤集录》中记载主审官根据一把镰刀上蝇类的大量聚集,确定镰刀主人为杀人凶手,这是国际上公认的有关法庭昆虫学的最早记载。至于现代法庭昆虫学研究则开始于19世纪后半叶的欧洲,第一个将昆虫用于法医学的西方人是法国的Bergeret,当他对巴黎郊区一所房子的壁炉后发现的婴儿尸体进行检查后认为,尸体上的昆虫表明死亡时间当在几年以前,从而论证凶手是该房屋的原主人,而非现在的居住者。与Bergeret同时代的Brouardel和Yovanovitch亦对此进行了有意义的探索。

此后,Mégnin作了拓展,他1894年出版了《La Faune des Cadavres: Application l' entomologie a La Medicine Legale》,指出:暴露于空气中的尸体约经历8个连续的腐败变化阶段,每一阶段均存在有与之相应的节肢动物种类,它们有规律地在尸体上出现。通过检验尸体上出现的昆虫种类,可以对死亡时间做出比较正确的估计。他的工作奠定了现代法庭昆虫学的基础。

进入20世纪80年代以来,法庭昆虫学迅速发展,大部分发达国家都开展了此方面的研究,其中以美国的研究最为广泛和深入。1988年第14届国际法医学和社会医学大会上,法庭昆虫学首次作为独立的分组讨论会出现;1990年9月美国召开了专门的法庭昆虫学学术会议;1996年第20届国际昆虫学大会上第一次出现了法庭昆虫学分组讨论会。英国广播公司自然历史部发行了一部科教片,片名为《目击证人是蝇类》(Witness is fly),用电影戏剧性地展示了一些法庭上有重要价值的蝇类的生物学及其在破案中的应用。法庭昆虫学已逐渐成为法医尸体检验的一个工具。

法庭昆虫学的发展,大大提高了死亡时间判断的准确性。现在死后间隔时间的判断由时间段提高到天,甚至小时。

第二节 昆虫与尸体分解

一、昆虫参与尸体分解及尸体分解阶段的划分

(一)尸体上昆虫种类的演替

腐败尸体为一系列的生物,包括细菌、真菌和动物等,提供了一个渐进变化的食物源。节肢动物组成了这些生物的主要成分,而昆虫又以其众多的种类和个体成了占统治地位的类群。Payne JA(1965年)在北亚利桑那猪尸的研究工作中发现了来自3个纲的522种节肢动物,其中84%是昆虫。Early & Goff ML(1986年)在夏威夷猫尸的研究中发现133种节肢动物,其中83%为昆虫。Goff ML(1991年)对

35 例室内外发现的人尸上的昆虫种类进行了研究，共发现 3 目、12 科、22 种昆虫，其中 2 目、5 科、10 种昆虫可出现于室内尸体上，3 目、11 科、17 种昆虫可出现于室外尸体上，5 种昆虫可同时出现于室内和室外尸体上，Introna（1991 年）对马里兰州腐食性蝇类观察表明，共有 2 科 8 种主要蝇类经常出现在尸体上。

昆虫在尸体上的出现极富规律，有一定的先后次序，与尸体的特定腐败阶段相关联。

Mégnin（1894 年）认为人尸体上节肢动物（主要是昆虫）有 8 个演替阶段。Payne JA（1965 年）在美国猪尸上进行了相当深入的研究，将腐败划分为 6 个阶段，即：新鲜、肿胀、迅速腐败、深度腐败、干化和残骸。

（二）腐败阶段的划分

综合各家观点，由 Goff ML（1991 年）所总结的腐败阶段如下。

1. 新鲜期　本阶段开始于死亡发生时，结束于肿胀发生前。最先到达尸体的为丽蝇科和麻蝇科昆虫，卵或幼虫被产在尸体的天然开口，主要在头部（眼、鼻、耳、口腔）和腹部，伤口也是主要部位。

2. 肿胀期　尸体从轻微的肿胀，到后期完全膨胀。尸体内部温度开始上升。肿胀高峰期，昆虫被强烈地吸引到尸体中。液体从尸体自然开口流出，带强烈氨味，使得尸体下面的土壤呈碱性，土壤中节肢动物开始离开尸体下的土壤。

3. 腐败期　尸体爆裂并塌陷，大量气体泄露出来。双翅目昆虫仍为主要类群，鞘翅目昆虫开始造访尸体。一些捕食性昆虫，如隐翅虫科，在肿胀早期可能到达尸体，腐败后期大量腐食性及捕食性甲虫到达尸体，大部分麻蝇和丽蝇完成发育，离开尸体化蛹。尸体上大部分的肌肉都被蝇类幼虫所吞噬。

4. 后腐败期　尸体只剩下毛皮、软骨和骨头，双翅目昆虫不再是尸体上的主要节肢动物，各种甲虫大量出现，种类和数量明显增多，在潮湿的栖境，鞘翅目有可能被双翅目及其滋生物所代替。

5. 残骸期　指只剩下骨头和毛发时，尸体内昆虫显著减少，尸体下面土壤中的生物开始恢复正常。早期残骸下土壤中有可能出现大量螨类。本阶段时间持续很长，在数月或数年后尸体下面土壤的变化仍可被探测到，主要取决于尸体位置（Goff ML，1989 年，1991 年）。

二、尸体分解过程中昆虫的演替规律

Payne JA（1968 年）以猪尸为材料进行观察，研究表明：①丽蝇可在尸体放置后 10 min 内到达并产卵；②肿胀期自第 2 天开始，主要以丽蝇、麻蝇、蝇科等为主，此外酪蝇和尖尾蝇科种类也开始出现；夜间则步甲、蚂蚁等亦可出现；肿胀中后期阎甲、隐翅虫以及果蝇、缘蜡等也开始出现；③腐败期约在第 4 天开始；鼓翅蝇、斑蝇、葬甲科等也可在腐败中期见到；此外，蛾类在腐败中末期开始出现；在高度腐败期除上述一些种类外，金龟、皮蠹、露尾甲在此时开始见到；④干化期一般在第 8 天以后，此期以鞘翅目昆虫以及螨类等其他节肢动物为主要种类。

K. Tullis（1987 年）以乳猪尸体为材料，发现新鲜阶段（1 ~ 2 d）首先出现的是金蝇，之后是果蝇、蚤蝇和隐翅虫；肿胀阶段（2 ~ 7 d）除上述昆虫外，麻蝇也开始少量见到；腐败阶段（5 ~ 13 d）金蝇仍是本阶段早期、中期的优势种类，之后则以蝇科和酪蝇科为主，隐翅虫是主要的捕食者；腐败后期（10 ~ 23 d）以小粪蝇、蚤蝇、酪蝇以及毛蠓科等为主；残骸阶段（18 ~ 90 d）以隐翅虫和蚂蚁为主要种类。

埋葬尸体中的昆虫区系因深度而有差异。土层可以阻碍许多暴露尸体上的昆虫种类进入土中，使埋葬尸体的降解时间明显地长于暴露尸体。Payne JA（1968 年）观察埋葬猪尸发现，昆虫孵化后幼虫穿过土层在尸体上产卵，这些昆虫包括埋蜡虫、隐翅虫、蚤蝇科的一些种类。

Simpson（1985 年）对浸水人尸观察表明，尸体的头部首先腐败，而尸绿直到 5 ~ 6 d 才开始出现。尸体的肿胀要在 6 ~ 10 d 后才出现。他指出：完全浸没水中的尸体与暴露或埋葬尸体上的节肢动物区系明显不同。部分突出水面或浸水前暴露一段时间的尸体，可能存在绿蝇或其他常生活于暴露尸体的昆虫种类。Payne JA（1972 年）以猪尸做的实验发现，浸水尸体新鲜期只有水龟虫存在，处于漂浮肿胀早

期的尸体，绿蝇在其凸出水面的部分产卵和活动；漂浮肿胀后期葬甲、隐翅虫、阎甲等可在尸体上活动。当尸体完全浸没水中时，昆虫也随之沉入水中；漂浮残骸期只有少量蛆虫和阎甲尚在尸体上。此外，小粪蝇、蚤蝇、果蝇、毛蠓等仍在尸体上取食。沉没残骸尸体彻底崩解而沉入水中，可以见到蚊类幼虫以及小型蝇类存在。

Meek 观察了被灼烧的肌肉能阻延蝇类入侵，表面被烧焦的肌肉对蝇类没有吸引作用。失火汽车上的猪肉，蝇类入侵约延迟 1 周。但是，在一顶端开口的金属容器中的谋杀案中，被烧焦的尸体在死亡后的几天内即有大量蝇蛆入侵。其原因尚未明确。

第三节　具有法医学意义的昆虫

一、与尸体有关的昆虫的类群

在应用法庭昆虫学时，首先要对昆虫的生活史、与尸体及周围环境的关系有一个透彻的认识。任何一个环境中发现的昆虫种群都包括两部分：一个为独特存在于该环境的成分，另一个则为广泛分布的成分。这些独特的成分可能限于一个特定的地理区或特定地理区的特定环境类型中，譬如沙漠或热带雨林。而广泛分布的成分可能在多个地理区都能见到，譬如在林地和海滩都可见到的蝇类。许多在尸体上高频发生的昆虫都有着广泛的地理分布范围。尸体上收集的来自此两成分的昆虫都能提供有关死亡时间及其他方面的信息。不是尸体上收集的所有昆虫和节肢动物都在腐败过程中起作用，有些昆虫也许只是偶尔在尸体上出现，譬如从灌木上掉到尸体上，这种现象特别易在那些企图隐藏尸体的案件中发生。当昆虫飞累时，可能将尸体作为落脚点。那些与尸体有直接关系的昆虫可分为以下 4 类。

1. 尸食性昆虫　它取食尸体，从法医学角度看最重要。例如，双翅目的丽蝇科和麻蝇科；鞘翅目的葬甲科和皮蠹科。依据这些昆虫常可做出死后时间的估计。

2. 杂食性昆虫　它既取食尸体，亦可取食尸食性昆虫，如蚂蚁、胡蜂以及一些甲虫。当这些种类虫口数量很多时，可由于它们对尸食性昆虫的取食而延缓尸体分解速率。

3. 尸食性昆虫的捕食者或寄生者　Smith KGV（1986 年）将该类按重要性排在尸食性昆虫之后的第二位。包括鞘翅目的葬甲科、隐翅虫科、阎甲科以及寄生蝇类幼虫的膜翅目等。一些双翅目幼虫前期为尸食性，后期成了捕食者，捕食其他虫虫，如丽蝇科的金蝇属、蝇科的黑蝇属和股翅蝇属。许多螨类，如巨螯螨科、寄螨科、派盾螨科以及尾足螨科，大概亦属于这一类，它们捕食其他螨类、昆虫及线虫。

4. 偶发种类或流浪者　它们从平常的生活环境扩散而来，为寻找水分或停息场所而偶然抵达，或刚路过、暂且停留并取食。如弹尾目的跳虫、蛛形纲的蜘蛛、粉螨科、脂螨科以及多足纲的蜈蚣等。

二、与尸体有关的重要昆虫形态学及生物学生态学规律

到目前为止，尸体上已经发现的常见昆虫种类共有 5 目约 56 科昆虫，详细目科名称见表 5－1。

表 5-1 尸体上常见昆虫类群一览表

目名称	科名称
双翅目	冬大蚊科 摇蚊科 蠓蚊科 毛蠓科 蠓科 水虻科 食虫虻科 蚤蝇科 食蚜蝇科 圆头蝇科 扁蝇科 日蝇科 鼓翅蝇科 小粪蝇科 斑蝇科 酪蝇科 水蝇科 果蝇科 叶蝇科 花蝇科 蝇科 厕蝇科 丽蝇科 麻蝇科
鞘翅目	步甲科 水龟虫科 隐翅虫科 葬甲科 郭公虫科 皮蠹科 露尾甲科 坚甲科 蚁形甲科 缨甲科 吸甲科 蛛甲科 拟步甲科 金龟子科 粪金龟科
膜翅目	蚁科 茧蜂科 跳小蜂科 金小蜂科 姬蜂科 环腹瘿蜂科 细蜂科 环腹细蜂科 锤角细蜂科
半翅目	仕蝽科 缘蝽科 长蝽科 猎蝽科 盲蝽科
鳞翅目	螟蛾科 谷蛾科

(一)双翅目

双翅目昆虫包括各种蝇、虻、蚋、蚊等种类,其成虫都只有一对发达的前翅,膜质有简单的脉序,后翅退化为平衡棒,复眼很大,几乎占头的大部分,单眼 3 个,触角或长而多节,或短而少节。口器端部扩大成盘状,上面有很多的沟,富于变化而适于舐食物体表面的汁液。双翅目昆虫是全变态类昆虫,也就是它们的个体发育经历卵、幼虫、蛹和成虫 4 个虫态,而幼虫又分为 1 龄、2 龄、3 龄 3 个龄期。

在众多的双翅目种类中,丽蝇及相关的种类为第一批到达尸体的种类,它们可提供比较重要的特别是死亡后的时间信息。新鲜尸体的微臭气味被风吹开,第一批飞行力很强的蝇类,例如,丝光绿蝇、大头金蝇、红头丽蝇或反吐丽蝇,追溯着这种臭味到达尸体。丝光绿蝇选择城市环境,伏蝇选择乡村环境。在理想的条件下,这些丽蝇可能在尸体死亡后数分钟内到达尸体。

对法医学有意义的双翅目幼虫无头、无足、蛆状,它们从长形的卵中孵化出来,成虫在尸体的自然开口产卵,例如:眼睛、嘴、耳朵、鼻子,如果没有覆盖,阴道、阴茎、伤口也是产卵的地方。这些卵通常用肉眼即可看到,像微型稻米,1~3 d 后它们孵化为一龄幼虫。在乡村地区,大型的、灰色的麻蝇在数天后到达尸体,它们直接产下 1 龄幼虫。

1 龄幼虫在 0.5~2 d 蜕皮后变为 2 龄幼虫,2 龄幼虫蜕皮成为 3 龄幼虫。各龄幼虫的区分主要是看后气门。

幼虫从其后部到前部逐渐变细,在头部有一对口钩,连接在内骨骼上,这些是对幼虫鉴定的极有价值的分类特征。在粗的后部是一对大的后气门,也是很有价值的特征。

幼虫常常大量地在尸体上活动,利用其含氨的分泌及排泄物来软化组织及中和僵尸中的酸。

当幼虫发育完成后,幼虫离开尸体,寻找合适的地方化蛹。自然情况下幼虫可能迁移 3 m,而在硬的表面其迁移距离更远,在所有影响蝇类发育和活动的因素中,温度为最重要的因素。

幼虫在土壤或衣服上化蛹,开始时幼虫静止不动且变为蛹状,末龄幼虫的皮形成围蛹,前蛹在其中发育形成蛹。Leclercq 指出在现场调查中,即使在尸体上发现幼虫,也需要寻找蛹,以便于确定幼虫在尸体上到底繁殖了多少代。在蛹阶段的末期成虫从蛹壳中羽化出来,通过一个膨胀的结构叫额囊来挤开蛹壳,并用同样的结构在土壤中打洞钻出来。

随着尸体上这些早期居住者的发育,腐败在进行,尸体发出的臭味在变化,变得更具有氨味及发酵味,这些新的气味吸引着其他种类的双翅目,这时昆虫的演替就在进行。

当脂肪组织腐败及疏松时,酪蝇就会被吸引来。而当尸体开始干化时,所谓的棺材蝇也就被吸引来。

卵、幼虫和蛹是尸体检查中常遇到的昆虫证据,其鉴定很重要。

下面介绍家蝇、丝光绿蝇、巨尾阿丽蝇、红头丽蝇、伏蝇、大头金蝇、棕尾别麻蝇等种类的形态学、生

物学及生态学特征。

1. 家蝇　成虫体长 5～8 mm，灰黑色，胸背板有明显的 4 条黑色纵条。雄蝇额宽为 1 眼宽的 1/4～2/5，而侧额在中部仅为间额的 1/8～1/6。雌蝇额在上方的侧额极狭。喙齿不特别强大，齿末端不尖，呈细锯齿状。所有各鬃位的后背中鬃都发达。前胸侧板中央凹陷具纤毛。下侧片在后气门前下方有毛，第 1 腹板具纤毛。腋瓣上肋前、后刚毛簇缺如（图 5－1）。

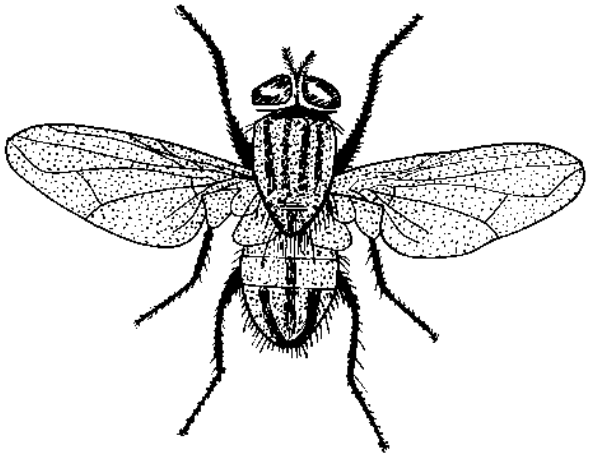


图 5－1　家蝇成虫（背面观）

卵长约 1 mm，乳白色，近香蕉形，2 条孵出线明显。

幼虫自 1 龄至 3 龄逐渐由透明、乳白色变为乳黄色。成长幼虫体长 8～12 mm，圆柱状，自中部向前逐渐尖细。口钩下方无附口骨，咽骨腹角短于背角，腹角上缘呈角形突起。前气门指状突 6～8 个。第 8 腹节无小棘和纤毛，后气门周围无小形锥突。后气门呈“D”字形，通常不全呈黑色，内侧有透明部，气门环完整，气门钮位于气门环的凹入部分，气门裂作蛇行弯曲。肛板狭小，呈凸形，肛孔后方有小棘群，肛疣明显大于亚肛疣，亚肛疣乳头状（图 5－2）。

围蛹长约 5.79 mm，宽 2.53 mm，蛹壳颜色随化蛹时间的长短而由浅变深，最后成为栗褐色。呼吸角短小，略高出表皮，锥形。肛区突起不明显。

全球分布，仅北美极北地区和智利最南部尚无报道。国内除青藏高原海拔较高地区未发现外，其余均有分布。

年发生世代数明显因地、因气温而异。一般 7～8 代，南方可达 10 多代，甚至 20 代。通常在滋生场地以蛹越冬，但在我国不同地区，至少有 3 种不同的越冬方式：华南亚热带地区和一些冬季温暖、平均气温在 5℃以上暖温带地区（如成都），冬季仍继续滋生繁殖，不休眠；江南地区和部分华北地区，冬季平均气温在 0℃以下，一般均以蛹越冬，少数地区也能见到蛰伏的雌家蝇和被厚厚滋生物覆盖着的不活动的幼虫；在寒温带地区，冬季在自然界没有活动的家蝇，而在人工采暖的室内仍有成蝇飞舞，并可取食和交配，甚至在滋生物上可发现幼虫。

家蝇种群数量随季节而变化。在我国广大温带地区，家蝇冬季停止繁殖，死亡率增加，种群密度很低。春季随气温上升，家蝇开始繁殖，密度增加。夏初逐渐形成第 1 个高峰。盛夏高温，密度下降。秋初繁殖猛增，达到年最高峰。而随着冬季降临，又逐渐下降，进入最低谷。在亚热带地区，家蝇全年都能繁殖。海拔高度和人类活动也是影响种群密度的重要因素。

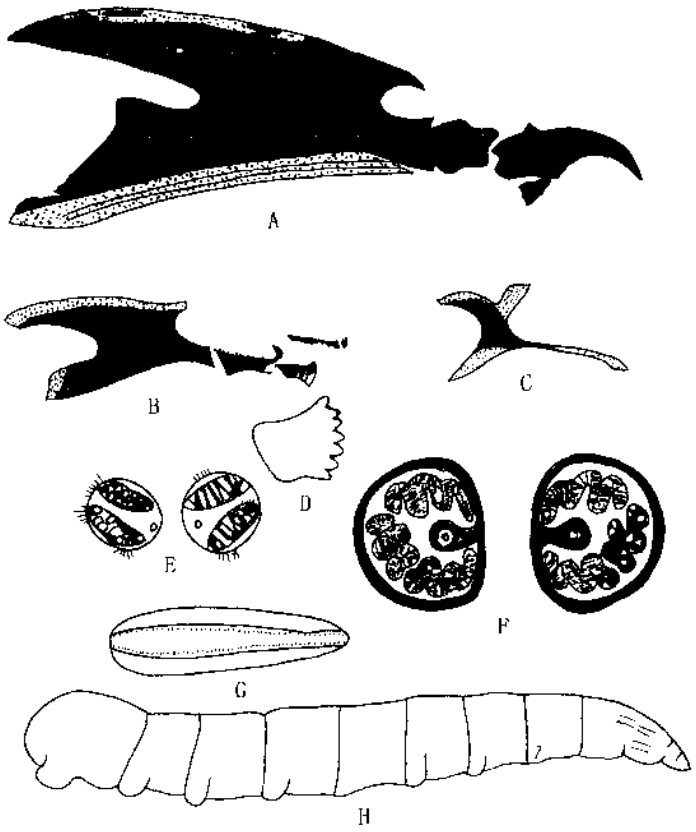


图 5-2 家蝇卵和幼虫

A. 3 龄幼虫口咽器侧面观 B. 2 龄幼虫口咽器侧面观 C. 1 龄幼虫口咽器侧面观 D. 2 龄幼虫后气门 E. 3 龄幼虫前气门 F. 3 龄幼虫后气门 G. 卵 H. 3 龄幼虫侧面观

供给适宜的营养,16,20,25,30 和 35℃下,完成 1 代所需最短天数,分别为 45~51 d,24~27 d,14~16 d,10~13 d 和 8~10 d(表 5-2)。在广东省电白地区自然条件下,从卵发育到成虫,春季需 14~18 d,夏季 7~9 d,秋季 9~15 d,冬季 23~29 d。在杭州,卵发育起点温度为(12.15±0.40)℃,有效积温(181.74±16.62)日度;幼虫发育起点温度为(8.63±0.52)℃,有效积温(117.43±6.85)日度;蛹发育起点温度为(12.73±0.15)℃,有效积温(75.14±3.12)日度;个幼期发育起点温度为(11.41±0.28)℃,有效积温(187.36±9.81)日度。

表 5-2 温度对家蝇发育的影响(Keiding,1976 年)

阶段	在适宜营养条件下(猪粪、马粪中)的最短天数(d)					低于下列温度停止发育	高于下列温度致死
	35℃	30℃	25℃	20℃	16℃		
卵	0.33	0.42	0.66	1.10	1.70	13℃	42℃
幼虫	3~4	4~5	5~6	7~9	17~19	12℃	45~47℃
蛹	3~4	4~5	6~7	10~11	17~19	12℃	45℃
卵~羽化	6~8	8~10	11~13	18~21	36~42		
羽化~产卵	1~2	2~3	3	6	9		
卵~卵	8~10	10~13	14~16	24~27	45~51		

成虫寿命30～60 d，在越冬状态下可生活达半年之久。大多数一生仅交配1次。一生产卵(8.6±5.6)次，每次(78.0±21.5)粒，一生(653±351)粒。

按形态将家蝇幼虫期可划分为：1龄期、2龄叠气门期、2龄后期、3龄叠气门期、无钮气门期、浅钮气门期和深钮气门期；蛹期可划分为：原蛹期、隐头蛹期、显头蛹期、半红眼期、红眼期和灰胸期。

2. 丝光绿蝇　雄蝇体长5.0～9.0 mm。中径脉和翅下大结节裸，后背中鬃有3～4个鬃位，后小盾片不突出或膨降，腋瓣上肋具前、后刚毛簇，下腋瓣裸，下侧背片无黑色纤毛，而后胸腹板具纤毛，肩胛上的肩鬃后区小毛在6根以上，通体金属绿色。雌蝇体长5.0～10.0 mm。额宽于一眼宽，侧额宽约为间额宽的1/2，侧后顶鬃一般2对以上，上眶鬃3，余似雄(图5－3)。

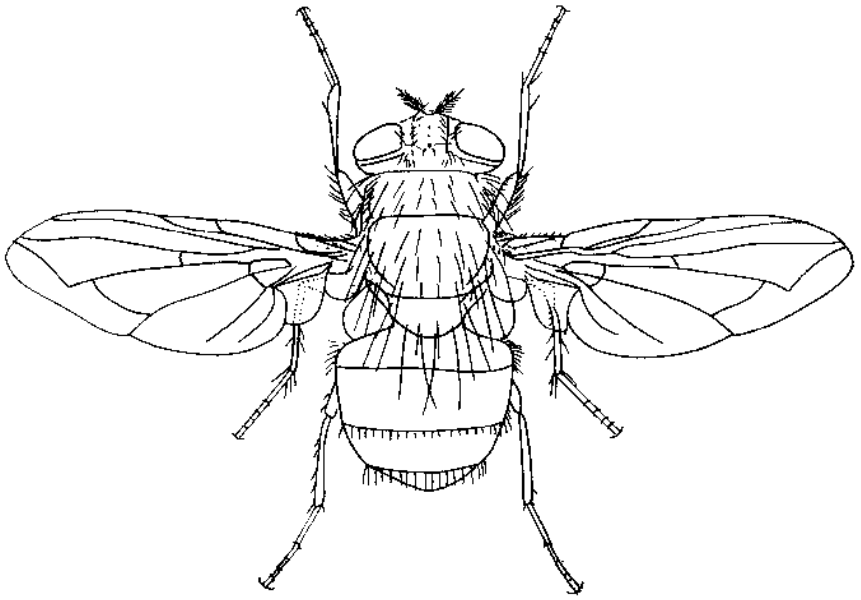


图5－3　丝光绿蝇成虫(背面观)

卵长(1.19±0.03)mm，宽(0.38±0.02)mm，近香蕉状，乳白色，卵壳上具六角形纹饰。

幼虫长成后长约15 mm。口咽器无附口骨，咽骨背角长于腹角。3龄幼虫各节前缘棘环于第5腹节以前，呈完整的环形，第2～7腹节的后缘棘环仅第7腹节完整，第7腹节后缘棘环背面的棘刺大小形状均相同。第8腹节背面中央光滑，全无微疣；背突间距略等于背突、亚背突间距，各突起内缘的毛状棘列均很发达。前气门有7～10个指状突，其后的管状部长与宽大致相等。后气门间距约等于1气门的横径向内延伸，钮孔大(图5－4)。

围蛹长(7.2±0.30)mm，宽(2.7±0.14)mm，红褐色。呼吸角细长，黑色。棘刺发达，后表面基本无凹陷。

主要分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、河南、山西、陕西、甘肃、青海、新疆、山东、安徽、江苏、上海、浙江、福建、台湾、江西、湖北、湖南、广东、广西、海南、四川、贵州、云南、西藏。

成虫为尸体、创伤、脏或湿的羊毛以及粪便所吸引，幼虫可在这些基质中生长发育，它是极为重要的一种法医昆虫。

国外过去报道，成虫羽化后5～9 d开始产卵，每雌虫产2 000～3 000粒，在大约3周时间内，分9～10批产下。在英国，丝光绿蝇夏天于室外肉上产卵，卵期10～52 h。在羊背表皮上、羊毛之下，那儿温度大约31℃，幼虫于8.75～10.25 h内孵化。在尸体上取食期5～11 d，但在33℃恒温下，可缩短至3 d。在羊的伤口于39℃下，1龄幼虫历时约12 h，2龄12 h，此温度下43 h后，幼虫离开伤口寻找化蛹场所。

夏天，预蛹期3 d至若干星期。在欧洲的冬天条件下，预蛹在土中不活动，直至温度回升至7℃，8～11℃间开始化蛹。冬季暖和，温度在0℃以上，则终年可以繁殖。蛹期在32℃下4～7 d，27℃下6～7 d，12～13℃下18～24 d。

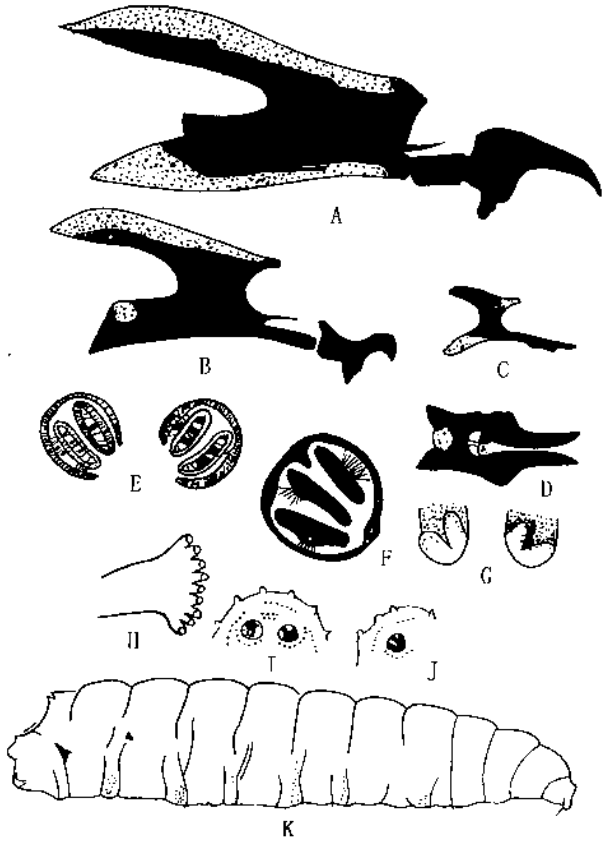


图5－4　绿蝇属幼虫

A. 丝光绿蝇3龄幼虫口咽器侧面观　B. 丝光绿蝇2龄幼虫口咽器侧面观　C. 丝光绿蝇1龄幼虫口咽器侧面观　D. 丝光绿蝇3龄幼虫上颚腹面观　E. 丝光绿蝇2龄幼虫后气门　F. 丝光绿蝇3龄幼虫后气门　G. 丝光绿蝇1龄幼虫后气门　H. 丝光绿蝇3龄幼虫前气门　I. 丝光绿蝇3龄幼虫末端（部分）后面观　J. 铜绿蝇3龄幼虫末端（部分）后面观　K. 丝光绿蝇3龄幼虫侧面观

Introna等（1991年）报道，在美国马里兰州夏季（温度范围11～37℃）丝光绿蝇卵期最短18 h，最长36 h（平均温度为24℃时，平均22 h）；幼虫期最短6 d，最长7 d（平均温度为27℃时，平均6 d）；蛹期最短6 d，最长8 d（平均温度为28℃时，平均7 d）；幼期合计13～17 d（表5－3）。

表 5－3　丝光绿蝇在不同恒温下的发育历期[d]（王江峰，1999 年）

阶段	18℃	21℃	24℃	27℃	30℃	33℃
卵	1.33（116＊）	0.98(116)	0.83(137)	0.75(126)	0.67(120)	0.60(110)
1 龄幼虫	1.75(96)	1.04(95)	0.96(102)	0.69(102)	0.58(104)	0.50(98)
2 龄幼虫	2.04(82)	1.13(76)	1.00(98)	0.63(97)	0.58(93)	0.50(87)
3 龄幼虫	14.50(48)	7.25(36)	4.75(49)	5.00(40)	13.08(63)	13.19(44)
蛹	15.00(37)	9.92(28)	7.71(44)	6.67(29)	5.25(43)	4.75(39)
合计	34.62	20.32	15.25	13.74	20.16	19.54

注：括号中为观察数量

在不同温度下幼虫体长与温度间的关系见表 5－4。

表 5－4　不同恒温下丝光绿蝇幼虫体长随时间变化的数学模拟（王江峰，2000 年）

温度（℃）	模拟方程	X^2	r
12	$Y=(13.7799-0.0536x)/[1+\exp(2.41171-0.3452x)]$ *	1.1549	0.9674
16	$Y=(13.0919-0.0703x)/[1+\exp(2.2103-0.7001x)]$	1.1370	0.9655
20	$Y=(16.0315-0.5434x)/[1+\exp(2.4735-1.0074x)]$	1.0988	0.9787
24	$Y=(13.1123-0.3242x)/[1+\exp(2.4009-1.7257x)]$	0.5583	0.9799
28	$Y=(13.6912-0.8039x)/[1+\exp(2.1163-2.2889x)]$	0.5536	0.9729
32	$Y=(13.9366-0.3379x)/[1+\exp(2.8650-4.4047x)]$	1.8373	0.8545

注：Y 为幼虫体长，X 为发育时间　表 5－6，表 5－9，表 5－12 与此相同

按外部形态，丝光绿蝇幼虫期划分为：1 龄期、2 龄叠气门期（第 1 叠气门期）、2 龄中期、2 龄后期、3 龄叠气门期（第 2 叠气门期）、开环期、浅闭环期、深闭环期和圆锥期；蛹期可划分为原蛹期、隐头蛹期、显头蛹期、黄眼期、半红眼期、红眼期、灰胸期、灰腹期和黑腹期（王江峰，2000 年）。

3. 巨尾阿丽蝇　成虫体长 4.8～12.0 mm。额宽率：雄为 0.14，雌为 0.42；中胸盾沟前的中央有 3 条明显的黑色纵纹，正中的一条略宽。雄露尾节特别巨大，折曲在腹部后端的下方。雌第 5 背板后缘中段有密的短鬃列，仅在少数个体中有正中纵缝痕；第 5 腹板大型，呈倒梨形，后缘无强大刚毛（图5－5）。

卵长（1.16±0.04）mm，宽（0.36±0.03）mm。近乎香蕉状，白色，靠近卵孔端表面具菱形网状纹饰。卵孔圆形。

3 龄幼虫口钩基部呈长方形，端部长为基部长的 1.5 倍，咽骨背角上缘中部稍向上凸出，咽骨腹角并不明显地向下后方延长。第 8 腹节背面无微疣，光滑。后表面的各突内方有明显的白色纤毛带，背突间距明显大于背突、亚背突间距，而亚背突、上侧突间距大致和背突、亚背突间距相等。前气门指状突 7～10 个，多数为 8～9 个；后气门横径约为 0.3 mm。气门环狭，棕色，钮部色淡（图 5－6）。

围蛹长（10.0±0.2）mm，宽（4.3±0.07）mm，黑褐色，壳厚，末端有浅凹。呼吸角粗短，略向前弯。

分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、北京、天津、山西、河南、陕西、宁夏、甘肃、青海、山东、安徽、江苏、上海、浙江、福建、台湾、湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南、西藏。

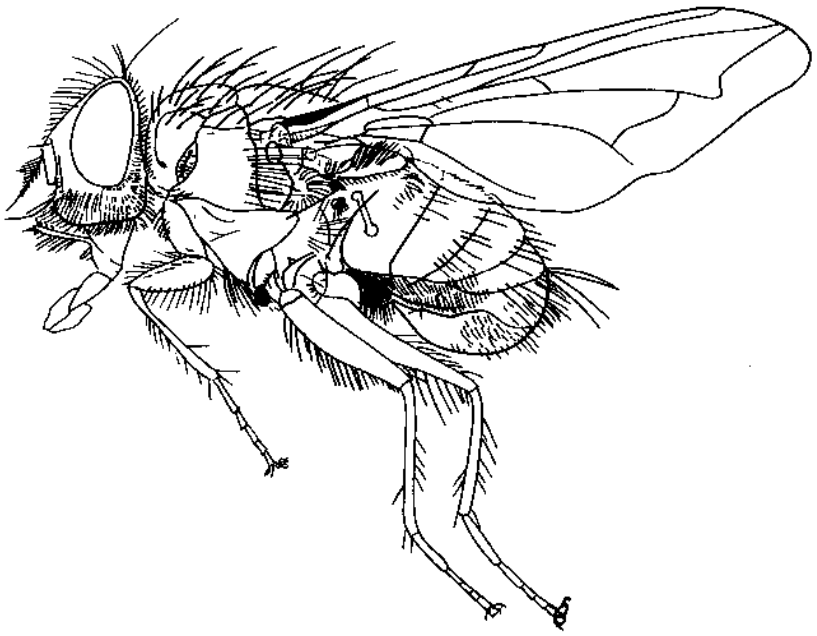


图 5－5 巨尾阿丽蝇雄成虫(仿范滋德等,1992 年)

在上海,3 月大量羽化,5～6 月为成虫出现盛期,炎夏差不多绝迹,初秋也很少见到,到 11 月再度出现一个繁殖期,以蛹和前蛹期幼虫越冬。平均温度 20℃,用鱼肉在室内饲育,自卵到成虫羽化历时 19 d,25℃时 15 d(范滋德等,1997 年)。仓桥弘(1984 年)在日本东京室内调查后,认为本种以雌成虫越夏,越夏场所不明,夏末未能诱到雄蝇,残存下来的已受精雌蝇在 9 月中旬天气转凉时进入摄食和产卵活动(表 5－5)。

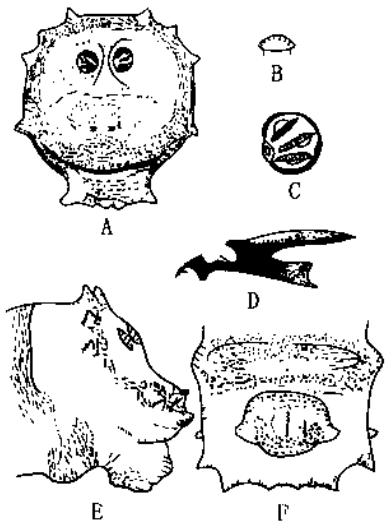


图 5－6 巨尾阿丽蝇 3 龄幼虫(仿范滋德,1997 年)

A. 第 8 腹节后面观 B. 前气门
C. 后气门 D. 口咽器 E. 第 8 腹节侧面观
F. 第 8 腹节腹面观

表 5－5　巨尾阿丽蝇在不同恒温下的发育历期(d)(马玉坤,1998 年)

阶段	温度(℃)						
	12℃	15℃	18℃	21℃	24℃	27℃	30℃
卵	3.08	1.88	1.35	1.17	0.90	0.78	0.71
1 龄幼虫	4.75	2.21	1.67	1.33	0.88	0.58	0.54
2 龄幼虫	4.50	2.75	1.50	1.25	1.13	1.00	1.40
3 龄幼虫	15.50	7.75	6.21	5.50	5.00	4.00	4.40
蛹	停止发育	12.00	10.75	10.50	7.50	7.00	停止发育
合计		26.59	21.48	19.75	15.41	13.36	

在不同温度下幼虫体长与温度间的关系见表 5－6。

表 5－6　不同恒温下巨尾阿丽蝇幼虫体长随时间变化的数学模拟(王江峰,2000 年)

温度(℃)	模拟方程	X^2	r
12	$Y=(23.2910-0.6309x)/[1+\exp(2.7565-0.5023x)]$	0.5185	0.9922
16	$Y=(20.1997-0.6257x)/[1+\exp(2.4950-0.7621x)]$	1.6076	0.9792
20	$Y=(22.2047-1.2779x)/[1+\exp(2.7773-1.2168x)]$	0.7975	0.9855
24	$Y=(17.5632-0.7348x)/[1+\exp(2.3306-1.4425x)]$	0.4321	0.9619
28	$Y=(17.3712-0.5930x)/[1+\exp(2.4654-1.8785x)]$	1.3802	0.9571
32	$Y=(15.3745-0.2625x)/[1+\exp(2.3531-1.9306x)]$	0.5953	0.9819

按形态巨尾阿丽蝇幼虫期可划分为:1 龄期、2 龄早期、2 龄后期、3 龄叠气门期、开环期、浅闭环期、深闭环期和圆锥期;将蛹期划分为:原蛹期、隐头蛹期、显头蛹期、白须胸期、黑胸期、红眼期及黑腹期(王江峰,1999 年)。

4. 红头丽蝇　成虫个体较大,体长 6.5～13.0 mm,前翅内鬃 1,雄虫侧阳体具细长而略向前弯的端突体,肛尾叶分支部几乎达全长的 1/2;触角第 3 节约为第 2 节的 4 倍;颊的前方大部呈红色,腹部呈青色(图 5－7)。

国内已知分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、北京、天津、山西、河南、陕西、宁夏、甘肃、青海、新疆、山东、江苏、上海、江西、湖北、湖南、四川、贵州、云南、西藏。

成蝇常见于垃圾、尸体、腐肉及粪便上,幼虫主要嗜尸食性,滋生在动物尸体上,较少在粪便中。生活史短于反吐丽蝇,主要是预蛹期较短。

Introna 等(1991 年)报道,在美国马里兰州春季(温度范围 8～32 ℃)红头丽蝇卵期最短 24 h,最长 64 h(平均温度为 16 ℃时,平均 36 h);幼虫期最短 8 d,最长 10 d(平均温度为 19 ℃时,平均 9 d);蛹期最短 10 d,最长 15 d(平均温度为 16 ℃时,平均 13 d)。幼期合计,最短 22 d,最长 25 d(表 5－7)。

Reiter(1984 年)对红头丽蝇的生长发育,作了详尽的实验研究,得出了如下结论:在较低温度下,卵期延长,幼虫生长较缓慢;较高温度下,幼虫达到最大体长较早;最大体长平均值随温度上升而下降;各温度条件下,幼虫达到最大体长后均缩短,在较高温度下,长度下降更快;恒温超过 30℃,导致幼虫成为"矮小型",不能化蛹,最终死亡;幼虫生长高峰后约 16℃恒温会阻碍化蛹,只有提高温度才能继续变态。

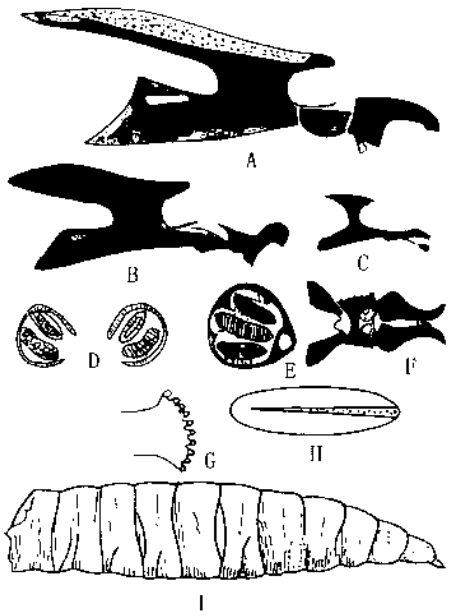


图 5－7　红头丽蝇卵和幼虫(仿 Smith,1986 年)

A. 3 龄幼虫口咽器侧面观　B. 2 龄幼虫口咽器侧面观　C. 1 龄幼虫口咽器侧面观　D. 2 龄幼虫后气门　E. 3 龄幼虫后气门　F. 3 龄幼虫口咽器腹面观　G. 3 龄幼虫前气门　H. 卵　I. 3 龄幼虫侧面观

表 5－7　红头丽蝇各发育阶段平均最短历期(Introna 等,1991 年)

阶段	10℃		12.5℃		19℃		25℃	
	时间(h)	%	时间(h)	%	时间(h)	%	时间(h)	%
卵	88	5.3	38	3.6	19	3.3	14	3.0
1 龄幼虫			49	4.6	22	3.8	18	3.9
2 龄幼虫	1～3 龄幼虫 224	1～3 龄幼虫 13.6	58	5.4	23	4.0	19	4.1
3 龄幼虫			65	6.1	65	11.2	26	5.7
不再取食的 3 龄幼虫	355	21.6	199	18.6	118	20.2	122	26.5
蛹	980	59.5	660	61.7	336	57.6	161	56.7

5. 大头金蝇　成虫体长 8.0～11.0 mm。雄蝇复眼上半 2/3 有大型的小眼面,与下方 1/3 范围内的小型的眼面区有明显区别;在额的长度内约有 25 排小眼面。胸部呈金属绿色,有铜色反光及蓝色光泽,前盾片覆有薄而明显的灰白色粉被(图 5－8)。

卵近乎香蕉状,白色,表面具小颗粒状突起。卵孔圆形,孔口具一圈突起的卵孔领片。

3 龄幼虫附口骨短小,呈椭圆形,口钩与咽骨腹角大体等长。各节的棘环由多尖型的棘组成。第 6 腹节前方腹垫的后缘无 1 列细小的棘形成的短列,第 8 腹节侧面棘群延伸到体侧中部。前气门 10～14 个指状突;后气门较大,其间距明显小于其横径,后气门下方有 1 对卵圆形凹陷区(图 5－9)。

围蛹长(7.8 ±0.20)mm,宽(3.0 ±0.12)mm,红褐色。呼吸角粗短,呈牛角状。

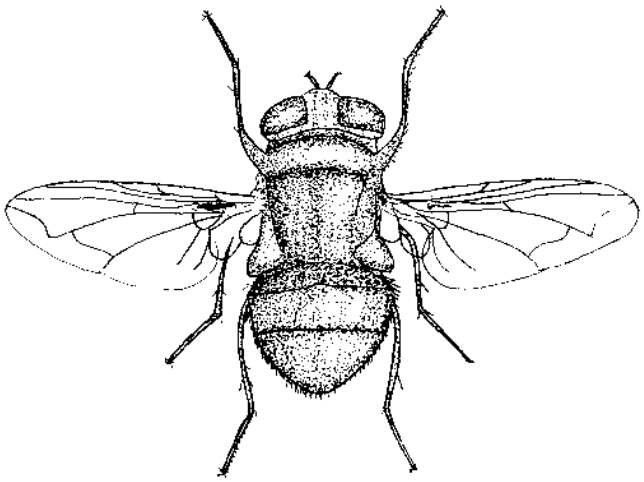


图5-8 大头金蝇成虫(背面观)

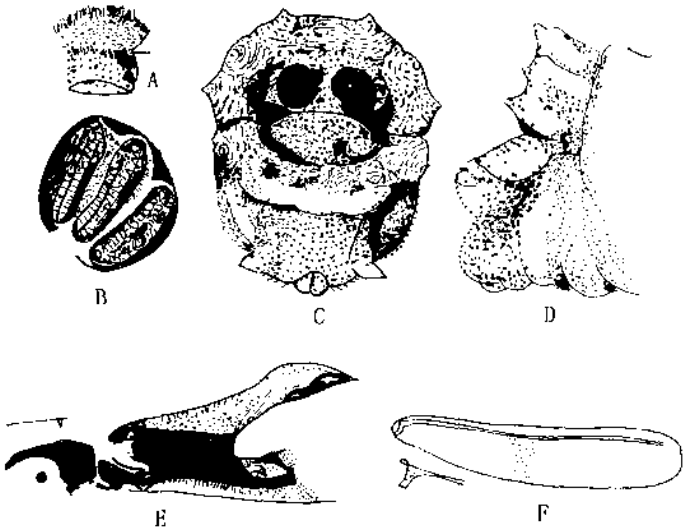


图5-9 大头金蝇卵和3龄幼虫

A. 3龄幼虫前气门 B. 3龄幼虫后气门 C. 3龄幼虫第8腹节后面观 D. 3龄幼虫第8腹节侧面观 E. 3龄幼虫口咽器 F. 卵

分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、北京、天津、河北、山西、河南、陕西、宁夏、甘肃、青海、山东、安徽、福建、台湾、江西、湖北、湖南、广东、广西、海南、四川、贵州、云南、西藏、江苏、上海、浙江。

成蝇常见于人类住所附近,在鱼肉市场、屠宰场、厕所、污水坑附近甚多。它们也为甜味食物所吸引,并会进入住家,取食甜食。

Wijesundara(1957年)曾在斯里兰卡研究了其生物学习性,产卵数大约220 320粒。

在国内,王江峰(1999年)饲养研究,所得发育历期、体长模拟分别如表5-8、表5-9。

表 5－8 大头金蝇在不同恒温下的发育历期(h)(王江峰,1999 年)

阶段	温度(℃)				
	16℃	20℃	24℃	28℃	32℃
卵	38.8	21	17	12.2	9.0
1 龄幼虫	65	33	19	13	11
2 龄幼虫	80	39	23	16	13
3 龄幼虫	221	126	108	85	78
蛹	384	186	126	102	73
合计	788.8	405	293	228.2	184

表 5－9 不同恒温下大头金蝇幼虫体长随着时间变化的数学模拟(王江峰,2000 年)

温度(℃)	模拟方程	X^2	r
16	$Y=(53.7674-2.9018x)/[1+\exp(3.4310-0.3700x)]$	0.7331	0.9850
20	$Y=(33.2743-3.3257x)/[1+\exp(3.1212-0.8738x)]$	0.1299	0.9922
24	$Y=(18.2062-1.6875x)/[1+\exp(2.6876-1.6387)]$	0.4111	0.9423
28	$Y=(14.7033-0.7001x)/[1+\exp(2.4028-2.3792x)]$	0.3499	0.9316
32	$Y=(18.3172-2.1345x)/[1+\exp(2.4326-2.5702x)]$	0.0626	0.9940

大头金蝇幼虫期可划分为:1 龄期、2 龄叠气门期、2 龄中期、2 龄后期、3 龄叠气门期、细长期、粗大期和圆锥期共 8 个阶段。蛹期依形态可分为:原蛹期、隐头蛹期、显头蛹期、半红眼期、黑胸期、浅黑腹期和黑腹期(王江峰,2001 年)。

6. 伏蝇 成虫体长 7.0～10.0 mm。雄蝇眼裸,头前面黑色,整个颜面扁平,间额最窄处似线,下眶鬃 11～12 对,下侧额棕黑色,胸背蓝绿色,具金属光泽,无色条。前气门黄色。翅茶褐色,足黑色。腹部蓝绿色,具金属光泽,无色带色条(图 5－10)。

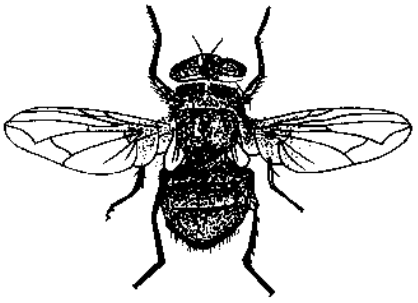


图 5－10 伏蝇成虫(背面)

国内已知分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、北京、天津、河南、陕西、宁夏、甘肃、新疆、山东、江苏、上海。

伏蝇是著名的动物尸体取食者。凉爽一些的天气有利于它的生长发育。

Introna 等(1991 年)报道,在美国马里兰州春季(温度范围 8～32℃)伏蝇卵期最短 20 h,最长 50 h(平均温度为21 ℃时,平均 36 h);幼虫期最短 8 d,最长 16 d(平均 10 d;蛹期最短 10 d),最长 20 d(平均温度为 19℃,平均 15 d);幼期合计 20～32 d。夏季(温度范围 11～37℃)卵期最短 10 h,最长 90 h(平均温度为 27℃时,平均 24 h);幼虫期最短 3 d,最长 9 d(平均温度为 27℃时,平均 6 d);蛹期最短 7 d(平均温度为 25℃时,平均 6 d);幼期合计 13～15 d(表 5－10)。

表 5－10　伏蝇各发育阶段平均最短历期(Greenberg,1991 年)

阶段	22℃		29℃	
	时间(h)	%	时间(h)	%
卵	20	5.9	18	6.5
1 龄幼虫	25	7.4	12	4.3
2 龄幼虫	25	7.4	15	5.4
3 龄幼虫	25	7.4	25	9.0
不再取食的 3 龄幼虫	125	37.2	110	39.4
蛹	116.5	34.6	99	35.5

7. 棕尾别麻蝇　成虫体长 6～9 mm。雄虫后足胫节无长缨毛;颊部后方 1/3～1/2 具白毛;后股腹面末端具卷曲的长缨毛;第 9 背板棕色;雌虫第 7 腹板呈 V 形向内深凹。

围蛹长(10.0±0.62)mm,宽(3.9±0.36)mm,红褐色。体表布满微疣,第 8 腹节后表面有深的椭圆形凹陷窝。幼虫滋生习性广泛,人粪缸和厕所是其主要滋生场所,人尸上也有发现。

分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、山西、河南、陕西、宁夏、甘肃、山东、安徽、江苏、上海、浙江、福建、台湾、江西、湖北、湖南、广东、广西、海南、四川、贵州、云南及西藏。

不同恒温下各虫态的历期如表 5－11。幼虫发育起点温度为(10.50±0.38)℃,有效积温(71.94±4.17)日度;蛹发育起点温度为(6.68±0.41)℃,有效积温(155.77±35.70)日度;幼虫～蛹发育起点温度为(10.41±0.44)℃,有效积温(225.49±14.66)日度。

表 5－11　不同恒温下棕尾别麻蝇各虫态的历期(h)(王江峰,1999 年)

虫　态	16℃		20℃		24℃		28℃		32℃	
	虫数	历期	虫数	历期	虫数	历期	虫数	历期	虫数	历期
幼虫　1 龄	103	41	134	19	126	14.0	122	13.5	136	6.3
2 龄	97	53	125	40	123	31	104	25	113	8.0
3 龄	67	218	108	133	104	75	85	57.5	92	65.9
蛹期	48	648	86	408	87	258	61	192	79	172
幼虫～蛹	—	960	—	600		378		288	—	252.2

幼虫体长与时间的关系可用以下公式表达(表 5－12)。

表 5－12　不同恒温下棕尾别麻蝇幼虫体长随着时间变化的数学模拟(王江峰,2000 年)

温度(℃)	模拟方程	X^2	r
12	$Y=(17.9269-0.3943x)/[1+\exp(2.0552-0.5356x)]$	0.3427	0.9877
16	$Y=(27.4532-1.1895x)/[1+\exp(2.4388-0.4593x)]$	0.2237	0.9939
20	$Y=(16.7284-0.8369x)/[1+\exp(1.8391-1.0802)]$	1.6698	0.9355
24	$Y=(11.0851+0.2060x)/[1+\exp(1.4783-1.4326x)]$	1.6496	0.9085

棕尾别麻蝇幼虫期按形态可划分为:1 龄期、2 龄早期、2 龄后期、3 龄叠气门期、浅环期、深环期和圆锥期共 7 个阶段。按形态将蛹期划分为原蛹期、隐头蛹期、显头蛹期、半红眼期、红眼期、黑胸期、灰腹期和黑腹期共 8 期(王江峰,2001 年)。

(二)鞘翅目

又叫甲虫,体壁坚硬,前翅加厚,合起来盖住胸腹部的背面和折叠的后翅,二翅在背中线上相遇。口器为咀嚼式,触角线状。全变态昆虫,卵呈卵圆形或圆球形。幼虫头部发达,较坚硬,口器咀嚼式,有 3 对胸足。蛹为裸蛹,触角、翅、足的芽体露在外面。

已知昆虫种类的 1/4 为鞘翅目,由于鞘翅目成虫在形态上相对比较统一,通过其口器及鞘翅很容易鉴定。甲虫进入尸体的时间比双翅目晚,这些也许是一种降低竞争的机制。或者由于快速运动的蝇类首先到达,其幼虫的发育速率较快。与双翅目相比较,甲虫尚没有得到相同的注意。虽然在尸体上可收集到许多鞘翅目昆虫,Easton 在一个狐狸的尸体上发现 87 种,2 000 多个标本,其中的许多为捕食性的隐翅虫,只有一部分直接与腐败相联系。Leclercq 研究了 4 个意大利的坠落在沙漠中的飞行员尸体上的昆虫类群,在这样的干旱天气下皮蠹代替了蝇类成为最大的尸体分解者。在沙漠中,实验表明在 24 h 内大量的皮蠹将出现在动物尸体上,其幼虫可在 3 ~ 4 d 后出现。

最早到达尸体的甲虫为阎甲及隐翅虫,其幼虫和成虫都是捕食性的,即取食双翅目幼虫,真正的取食尸体的主要为皮蠹科、啮蜡虫科、蛛甲科和谷盗科昆虫,它们通常被干的食物、皮肤及干尸所吸引,另外也包括粪甲、金龟子总科(包括金龟子科、粪金龟科和皮金龟科)。尸体甲虫被认为具有敏感的嗅觉,但 Shubeck 的研究表明它们是通过机遇发现尸体。

1. 阎甲科　阎甲,英文名"hister beetles"或"steel beetles"。小至中型,宽圆形,亮黑褐色或具金属光泽。触角膝状,第 1 节较长,端部 3 ~ 4 节棍棒状,下颚有 2 叶。鞘翅后端截断状,常露出腹末 1 ~ 2 节。胫节宽扁,前足胫节外侧具刺或齿突,跗节 5—5—5 或 5—5—4。触角和足均可缩藏在腹面的槽中(图 5 - 11)。

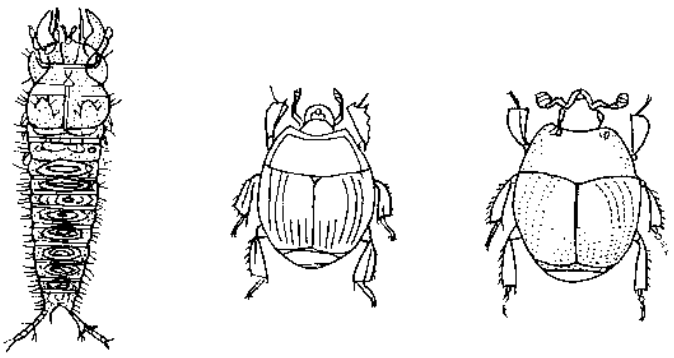


图 5 - 11　阎甲科(仿 Smith,1986 年)

A. *Hister cadaverinus* 幼虫　B. *Hister* 属成虫　C. *Saprinus* 属成虫

幼虫体软、细长,体壁多皱纹。无单眼和上唇,上颚与口须突出。中、后胸特别短,尾突 2 节。

本科昆虫生活在腐败物质或菌类中,捕食双翅目和夜蛾科幼虫或木材害虫,或取食动物尸体、粪便。有些种类生活在啮齿动物、蚂蚁、白蚁巢中,也有的发现于粮食仓库、加工厂中。

可以说哪里有腐烂东西,哪里就有阎甲。在美国,Payne 和 King(1970 年)于猪尸体的肿胀、腐烂期以及干尸早期都发现它们。白天常躲在尸体下面,夜间十分活跃,专食双翅目幼虫。在哈尔滨,腐肉上可采得直径阎甲和小龟形阎甲。

周红章等(1997年)报道在北京人尸体上采得7种,它们是:①尖腐阎甲,分布于北京(清河、房山、密云)、欧洲;② *Saprinus cuspidatus* ,分布于北京(清河、房山);③丽腐阎甲,分布于北京(清河、房山、密云);④铜腐阎甲,分布于北京(清河、房山、密云);⑤日本阎甲,分布于北京(房山)、日本;⑥介真阎甲,分布于北京(清河、房山、密云)、江苏、浙江、福建、广东、俄罗斯、日本;⑦ *Margarinotus* ,分布于北京(清河、密云)。

2. 埋葬甲科 Silphidae　埋葬甲又称"葬甲"、"埋葬虫",英文名"carrion beetles"或"burying beetles"。小至中型,宽短,体壁较软,黑或红色,常有淡色花纹。鞘翅端部截断状或圆形,常露出端部3个腹节。腹部4~7节(图5-12)。

幼虫蛃形,两侧常具棘齿。头前口式并嵌入前胸内;每侧单眼6个,分为2群;触角3节。前胸宽约为头宽的2倍,胸足4节,转节小,腿节和爪大型。腹部10节,第9节端部有1对分节的尾突,气门位于第1~8节腹侧区。

成虫和幼虫腐食性,聚集在动物尸体、排泄物附近,或生活在腐木、蚁巢中,或食蛆虫、蜗牛等,也有取食植物质的。

周红章等(1997年)在北京人尸体上发现本科5种,它们是:①大负葬甲,分布于北京(清河、房山)、蒙古;②小负葬甲,分布于北京(房山)、日本;③滩尸葬甲,分布于北京(房山)、欧洲;④曲亡葬甲,分布于北京(清河、房山、密云)、欧洲;⑤红胸葬甲,分布于北京(房山)、内蒙古、台湾、日本、欧洲。

3. 隐翅甲科　隐翅甲又称"隐翅虫",英文名"rove beetles"。小至中型,细长,两侧近于平行或末端尖削,黑、褐色或色彩鲜艳。头前口式,有的无复眼,单眼1或2个,后翅多发达,卷褶在鞘翅之下,跗节5节(图5-13)。

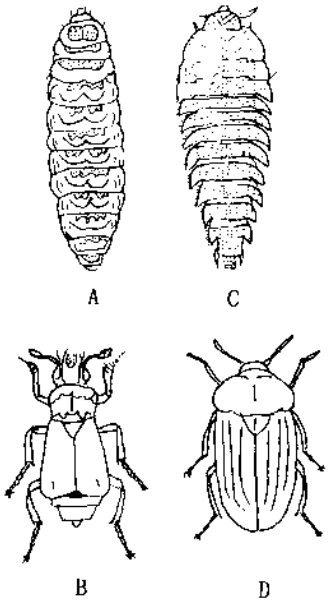


图5-12　埋葬甲科(Smith,1986年)
A,B *Nicrophorous* 属 A. 幼虫　B. 成虫
C,D *Silpha* 属 C. 幼虫 D. 成虫

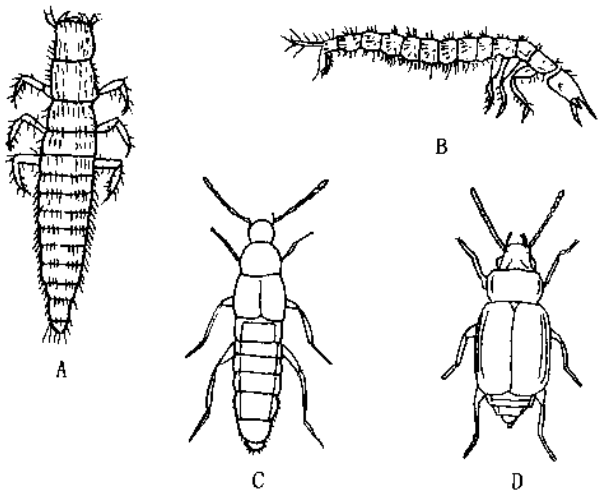


图5-13　隐翅甲科(仿 Smith,1986年)
A. *Atheta sordida* 幼虫　B. *Philonthus* 属幼虫　C. *Oxypoda* 属成虫
D. *Anthobium* 属成虫

幼虫蛃形,多细长。头前口式,胸足4节,1爪。腹部10节,尾突1对,分节。

成虫常翘起尾端。成虫和幼虫往往栖息在植物覆盖的潮湿环境或鸟兽、白蚁巢内。食腐败动、植物,亦可为害烟草,捕食软体动物和昆虫。在尸体上本科大概是最常见的捕食者。双翅目幼虫是其主要

猎物，发生在尸体上的其他幼虫也会被取食。在尸体肿胀期，也即死后几天，它们即可到达尸体，可以一直活动到不见其他昆虫为止。

三、具有法医学意义的其他目昆虫及节肢动物

除了前文所述昆虫，尚有以下目昆虫及节肢动物，分别是弹尾目、蜚蠊目、直翅目、等翅目、革翅目、半翅目、蚤目昆虫以及重足纲、蝎目、蜱螨目、甲壳纲节肢动物。对其形态学特征及生物学习性，这里不再赘述。

第四节 法庭昆虫标本的采集和保存

法庭昆虫标本的采集、保存及饲养至关重要。在现场及时、正确地采集标本，做到所采标本具有代表性，虫种、虫态和龄别不遗漏，能充分说明情况，形态特征完整，数量充足，保存良好，这是顺利开展进一步工作的基础。至于幼期阶段则常需通过饲养以获得成虫标本。只有符合要求的采集、保存及饲养，才能合理推断，提供有效物证。

一、采集工具

常用的有以下各项，其中许多是必不可少的：①各式捕虫网、扫网及水网；②各式大小不同的镊子，用来镊取各类标本；③粘蝇架，用来粘取成蝇或其他成虫；④滴管，用来采集水体中的小昆虫；⑤吸虫器，用来收集小型的爬行或飞翔昆虫；⑥指形管；⑦小毛刷，用来刷取标本；⑧广口标本瓶；⑨塑料盒或厚纸板盒；⑩保存液；⑪毒瓶；⑫标签；⑬温度计。

二、死亡现场的标本采集

在死亡现场的法庭昆虫学工作包括：①尸体移走前，在尸体周围（6 m 内）的标本采集；②尸体移走前，在尸体上的标本采集；③尸体移走前，在尸体之下以及紧靠尸体附近（1 m 内）的标本采集。另外，还包括死亡现场的观察记录和温度、湿度等数据的收集。

死亡现场观察记录应包括：①记录尸体的具体、确切位置，主要有主轴方位，身体两侧位置，头、脸位置，各部分与基物接触情况，并记录 1 d 内阳光直射部位和阴影部位；②观察记录昆虫飞行、停留、爬行情况，种类及大致数量；③观察记录昆虫取食痕迹、粪便、幼虫蜕皮及尸体上的逸出孔；④观察记录捕食性昆虫如埋葬甲、隐翅虫、蚂蚁、胡蜂和寄生性昆虫如姬蜂、茧蜂、小蜂的情况；⑤观察任何不寻常的种种现象，如尸体上的创伤、火烧、包被、埋葬、肢解或移动等。

书面记录之处还应辅以照片、录像或草图。详尽的各虫期特写照片在分析时可提供重要信息。每一张照片的具体拍摄时间都应予以记录。

昆虫发育所需的时间主要取决于温度、湿度、降雨、积雪、雾等环境因素，这些因素也可影响其发育速率或行为，有关情况和数据均应注意收集。在现场要取得以下诸项温度记录。

（1）四周气温　记录尸体附近 0.3 m 到 1.3 m 高度之间的温度计读数。

（2）地表温度　将温度计放于地面来测量。

（3）体表温度　将温度计贴在尸体表面来测量。

（4）尸体贴地面温度　可通过将温度计插入尸体与地面接触处测得。

（5）蛆虫堆温度　将温度计插入蛆虫聚集中心测得。

(6)土壤温度　尸体一移开立即测出其下的土温,同时测定离开尸体 1 ~ 2 m 处的土温。每处各 3 类水平土温,即覆盖物(草、树叶等)之下的土温;10 cm 深处土温;以及 20 cm 深处土温。

测量时阳光不能直接照射温度计的水银球。

每天尸体暴露于直射光、碎光及阴暗处的时间可通过观察头顶及周围的植被或窗子的位置来达到。如果很难确定,在晴天周期性观察一天也可解决这一点,通过干湿球温度计等来记录现场的相对湿度。

在现场的其他调查工作完成后,很重要的一点就是在死亡现场进行周期性的温度观察,每天 8:00、14:00、20:00 记录现场气温,持续 2 ~ 5 d(或用周记温度计记录),这些数据将用来校正最近的气象站的温度记录。

尸体移去前的标本采集,包括周围采集和尸体上采集两部分。周围采集主要是:①网捕飞行昆虫,一般须重复多次,以保证所有飞行种类都能采到;②用镊子采集地面爬行昆虫,包括甲虫、蚂蚁、蜻类、跳虫等以及新羽化的蝇类;③用较厚实的捕虫网在尸体附近植物上扫捕,通常可以采得许多与尸体有关的双翅目成虫。

使用捕虫网时,可将捕得的昆虫连同网底置于毒瓶,在 2 ~ 5 min 内毒死昆虫,然后转入盛有 75% 乙醇的瓶内,部分可放入干燥的瓶内,供直接针插用。无论从网中取得或置入瓶内都须小心从事,避免标本受损伤。

每个采集瓶内,在放入标本的当时,就必须放入标签,写明案件号码、采集地点、日期、时刻,等等。标签一定要用铅笔书写而不用墨水。瓶的外边另贴同样内容的标签。双重标签是法庭昆虫学工作中的标准做法。这样做,可保证不因外部标签的脱落而失去标本。当携瓶回室内制作或检查标本时,内边一张标签取出放在有部分标本的检查容器内,其余的标本仍在具有外部标签的原瓶中,可不致出现混淆和差错。瓶号和采集地点等都必须登记在有关表格上。

周围采集完成后,可开始尸体上的采集工作。在尸体装袋和移走前,只能采集尸体表面各虫态昆虫,不许动衣物和尸体。用镊子或其他工具采集时,要极端小心,不能造成损伤,引起原先不存在的疑问。彻底检查衣物,收集现场未收集的昆虫,可在尸体解剖时进行。

卵和大小不等的幼虫要注意收集,部分置入保存液中,另部分用于饲养。用于饲养的部分应选活的置于包含有潮湿纸巾的塑料杯中,或直接置入事先准备好的蛆虫饲养杯中。饲养工作十分重要,养出成虫便于精确鉴定或证实幼虫鉴定的结果。不仅大幼虫要饲养,小幼虫和卵也要重复饲养。

早期尸体上最吸引昆虫前来活动的是鼻孔、耳、口、眼等部位和刀、枪、钝器打击后的各种创伤。颈部皮肤褶皱处、头发上、暴露在外的生殖器和肛门附近也都是检查的重点。

在室外,若尸体上已经发生大量昆虫,当尸体移去后,将有许多成虫、幼虫、蛹以及其他节肢动物留在地上,应注意采集。幼期除保存外,同样还要进行饲养。

地面上接近尸体或在尸体之下的草、叶片、树皮、腐殖质及其他杂物中,很可能隐藏有许多尸食性昆虫及其天敌。应取样置入纸板盒或塑料容器内,写明标签,带回实验室以供检查之用。

与头、躯干、四肢接触的土壤,尸体下面、尸体临近处及离开尸体 1 m 处的土壤均需取样,并写明标签。收集躯体不同部位的卵、不同大小的幼虫(须包括最大的幼虫)、蛹等,按不同部位分开浸泡在 85% 的乙醇中,每部位采集 20 ~ 30 头,做好标签,注明采集部位。

三、处理液

常用的处理液有以下 8 种。

(1)70% ~ 80% 乙醇

用途:①杀死和保存成虫标本;②保存幼虫标本。

(2)Hood 氏溶液

配方:75%乙醇30 ml、甲醇12 ml、冰醋酸4 ml、水60 ml。

用途:用于保存幼虫标本。

(3)Kahle液

配方:95%乙醇30 ml、甲醛20 ml、冰醋酸4 ml、水60 ml。

用途:①杀死和保存成虫标本;②保存幼虫标本。

(4)KAAD

配方:95%乙醇80~100 ml、冰醋酸20 ml、煤油10 ml、二噁烷10 ml。

用途:仅用于杀死幼虫标本,不用于保存。因大约12 h以后,标本即开始变脆而易碎。杀死后,标本应取出置于70%~80%乙醇中。

(5)XA

配方:二甲苯50ml、95%乙醇50 ml。

用途:杀死幼虫标本。

(6)XAAD

配方:二甲苯40 ml、异丙醇60 ml、冰醋酸50 ml、二噁烷40 ml。

用途:杀死幼虫标本,不用于保存,理由同KAAD。一般采到之初采用,10~12 h后将幼虫转入75%乙醇中。

(7)Carnoy液

配方:冰醋酸10 ml、95%乙醇60 ml、30%三氯甲烷30 ml。

(8)Pampel氏溶液

配方:10%甲醛水溶液10 ml、95%乙醇30 ml、冰醋酸7 ml、水53 ml。

第五节 昆虫数据分析及推断死亡时间的方法

一、昆虫检测的程序

1. 首先,决定尸体分解的大致阶段(例如:新鲜期、快速腐败期、干尸期,注意:这些阶段只是尸解的大致特征,尸体的不同部位处于不同的腐败期)。确定腐败阶段及季节后,从当地的经验及文献决定昆虫及演替的阶段,接下来检查所收集的标本确定有无昆虫类群漏检。

2. 接着鉴定收集的标本,凭文献及经验,确定昆虫的地理及季节分布,最大标本的发育及龄期,考虑可能的影响因素,譬如突然的气流、阳光辐射、埋葬、浸水、植被等。

3. 在室外情况下校正死亡后的环境数据记录,在室内情况下,确定因恒温或与外界隔离所造成的气温升高或降低的大致时间。

4. 在解剖时记录和直接观察,确定昆虫的主要类群,同时也从法医处得到大致的死亡时间。

5. 根据死亡现场报告决定尸体是否被干扰过,洪水或滑坡能引起尸体运动,在有大型肉食动物时也可能扰乱尸体,这种运动将延迟昆虫的演替,如果昆虫类群所指示的时间与大致的尸体腐败时间不一致,则尸体可能在死后被移动过。

6. 确定是否指示有毒物或药品包括酒精等存在于昆虫,譬如蝇蛆体内,如果它们取食有毒的组织,可经毒物分析检测出来,这些物质也能影响蝇蛆的发育速率。

7. 现在集中考虑以前的事实,统计足够多的昆虫标本,根据昆虫的生长发育数据,以得到合理的时间,这个时间是从昆虫最初的活动到标本的保存这段时间。此外,考虑昆虫的活动是死亡后立即发生的或是延迟的(例如:天气的影响,是否有覆盖等,丽蝇可能的季节种群水平,昆虫到尸体的途径),一般统计的最短的死亡后时间比统计的昆虫发育的时间要长。

二、根据昆虫推断死亡时间的方法

截至目前，根据昆虫推断死亡时间的方法主要有以下2类。

（一）利用蝇类生长发育规律判断死亡时间

该方法是目前腐败尸体上最有效的方法，即使在新鲜尸体上也不亚于其他方法。其理论基础为昆虫的积温法则，即昆虫在生长发育过程中必须从外界摄取一定的热量，其完成某一发育阶段所摄取的总热量为一常数。这个概念一般用以下的公式表示：$NT = K$，式中N为完成生长发育所需的时间，T为该期平均温度，K为常数。然而，许多昆虫的发育起点温度常常不是0℃，而是在0℃以上。外界对生长发育的作用只能在发育起点温度以上才显示出来。因此在发育起点以上的温度才是有效温度。昆虫在生长发育过程中所受的总热量应该是有效温度的总和。上面的积温公式也应进行相应的校正而成为：$N(T - C) = K$，式中C为发育起点温度，$T - C$为发育有效平均温度，N为发育时间。本方法因依据的指标不同，可分为以下4种。

1. 生活历期推断法　根据尸体上昆虫所到达的发育阶段，结合其发育数据和气象资料，计算昆虫到达该发育阶段所需时间，进一步判断死亡时间。目前我国常见尸食性昆虫的生活历期已经比较明确。

2. 体长推断法　主要根据蝇类昆虫在生长发育过程中的体长变化来推断时间。目前国际上已经建立了常见昆虫体长随时间变化的数据库，我国也初步调查了常见种类的体长变化。

3. 形态推断法　昆虫在生长发育过程中，其体表形态也随之发生变化，通过查看昆虫的形态特征即可初步估算出发育时间。王江峰等（2000年）对我国常见的尸食性蝇类昆虫的体表形态进行了系统研究，发现幼虫期和蛹期均可分为若干阶段，这些阶段可表征其发育时间。

4. 几丁质片层计数法　几丁质片层（cuticular chitin layer）是昆虫体表皮的片层状结构，由成分为乙酰氨基葡萄糖多聚体的几丁质和蛋白质构成，透射电镜下呈横条状或波浪形的几丁质片叠加形态，且具有时间积累性的特点，所以被用于测定昆虫日龄的方法。

（二）根据常见昆虫在尸体上的演替规律判断

其依据的原理是腐败尸体上的昆虫是一个不断变化的微生活群落，它们随腐败的演替发生一系列可预测的变化。因此通过查看所发生的昆虫种类，即可判断出尸体所经历的时间。

第六节　昆虫学证据的实际应用

一、死亡时间估计

死亡时间一般通过死后间隔时间（postmortem interval，PMI）来确定，通常总是蝇类最先到达尸体，因而蝇类的应用最为常见，既可根据其卵或幼虫的发育历期来推断死亡时间，也可根据其蛹来推断。不仅应用蝇类亦应用甲虫或其他昆虫；不仅根据1种昆虫，亦可根据几种昆虫或尸体上的昆虫区系演替来推断死亡时间。

案例1　8月间某天上午9时左右，在美国华盛顿州Spokane附近一批废弃汽车之间，发现一半裸年轻女尸，脸略朝下，胸部、颈部有多处刺戳伤痕，在伤口之中及其周围可见丽蝇成虫，在晚些时候尸体解剖时，从伤口采得蝇卵。随后剖查显示这些卵的胚胎尚未发育，说明PMI不足8 h。

死者在事发2 d前的傍晚曾被人见到过。昆虫学方面的证据说明死者就是在尸体发现的前一夜被谋杀的。假使死得更早一些，由于尸体发现之前2 d内的气候条件均适宜于丽蝇成虫活动和产卵，从伤口应可找到蝇蛆而非蝇卵。后来证实，该死者确实是在发现尸体之前的那个夜间被杀害的（Lord 1990年）。

案例2 1935年9月29日下午，警方得到报告说，在英国爱丁堡附近发现了经肢解的人尸。经查明是2具尸体，分别是Ruxton夫人和她孩子的护士Mary Rogerson。根据尸体上发现红头丽蝇3龄幼虫，Mearns博士估计死亡已达12～14 d。此估计与其他方面证据相一致，证实了有关证据，虽然犯罪嫌疑人Ruxton医生并没有坦白，仍然对他定了罪(Glaisteretal，1937年)。

案例3 1970年7月13日至14日，警察部门送来了9份采自苏兰中部森林的土壤样本，在那儿于7月9日发现一17岁女孩的腐烂尸体，部分盖有苔藓和腐烂的树枝。大多土样中只有非指示性昆虫，但头部之下的土样中包含有187头丽蝇科幼虫，处于不同虫龄，还有8头粪金龟、阎甲以及隐翅甲。土壤并沾有脑腐败后流出的汁液。尸体骨盆之下的另一土样中包含有91头小蝇蛆，加上3头粪金龟和18头隐翅甲。此土样亦包含17头蝇蛹，其中7头是空壳。围蛹和若干幼虫被置于罐中饲养。

7月16日至20日2头肖腐蝇和若干其他蝇科昆虫羽化，但无丽蝇。从头下土样中得到的丽蝇幼虫，培养在动物肝上，在室外温度下，34头新陆原伏蝇(属丽蝇科)自7月27日至8月4日羽化，3头亮绿蝇(属丽蝇科)自7月30日至8月3日羽化，7头反吐丽蝇羽化。

由于没有得到丽蝇围蛹，只找到成长幼虫，昆虫学证据指出尸体在发现地的时间不超过1周。相反，根据肖腐蝇蛹的存在，指出死亡要早些。但该种属于当地正常区系的可能性也是存在的。虽然昆虫学观察指出尸体暴露可供丽蝇产卵不超过1周，但脑子高度腐烂说明死亡超过1周。因此引发了这样的问题：杀害是否发生在别的很少蝇类活动的环境中，尸体是以后才转移到这里来的？后来得到报告，尸体曾被盖上相当厚的一层苔藓，仅头、1只手、1侧乳房未盖上。起初大概盖得相当彻底，后来被狐狸、狗或其他食腐肉的脊椎动物撕开了。部分暴露可供丽蝇产卵大约在尸体发现前1周。

后来，死者兄弟供认，1970年6月4日他用karate(一种日本式自卫武器)打击其颈部一侧，意外地使其姐姐死亡。他为了掩盖事实，将尸体运至森林中，将尸体的衣服、姿势模拟成情杀，然后盖上苔藓和烂树枝。

此案显示，尸体覆盖可防止蝇类产卵。仔细检查尸体上覆盖物的类型、覆盖程度、有无破孔十分重要。同时，也可看出腐蝇属*Muscina*昆虫，此类昆虫具有不直接接触尸体仍可产卵的特殊本领(Nuorteva，1977年)。

案例4 1944年3月15日，在结冰的条件下，一新生婴儿连着胎盘被包在毯子和报纸中，放于纸板箱内，在一狭长掩壕中被发现。掩壕地面盖有很厚一层上一年的山毛榉叶片。根据其保存完好的状态，经手检查的法医病理学者认为婴儿被抛弃不过几个小时。然而，在包被物内以及胎盘附近发现有大约30头隐翅甲，说明抛婴时间要长得多。前2周天气一直很冷，在这种条件下，这么多甲虫自叶片堆中的越冬场所集中到一起来需要时间。后来，其母亲招供说，抛婴已经9 d。

案例5 某年1月29日，在栎、槭混合林中地面上，发现一15岁白人女尸骸骨。在头盖骨之下有一大约含100小室的马蜂巢。蜂巢直径8～9 cm，小室直径5～6 mm，全是空的，说明整个巢是上一年筑成并被使用。骸骨旁边有一松弛的电线，显示死者是被勒死的，此外，还有一褪色的工装裤。

所有迹象说明，一大群马蜂去年夏天就栖息在其中。马蜂在当地大概为4月中旬开始寻找筑巢地点。地点必须干燥、安全。意味着在去年春天，头壳内所有组织已分解完毕，蝇蛆活动发生在前年晚秋以前。这样，死亡发生至少已18个月。

法医人类学者根据骨骼风化，法庭材料学者根据工装裤的变化，支持这一结论。后来，齿科学鉴定结果，说她死于尸体发现前两年的2月。

二、死亡原因分析

包括被刺身亡、药物中毒等。

案例1 几年前，在美国马里兰州的郊区发现一衣着完整的青年女子尸体。该妇女数天前傍晚外

出散步，再没有回家。发现时尸体已中等程度腐败，在胸部和颈部有许多蝇蛆，两手心也有蛆虫。在现场和尸体检验时，未采集昆虫标本。起初，死亡被认为是药物过量所致。

案件调查者最后要求昆虫学者重新审查尸体照片，看蛆类虫态、龄别是否与失踪时间相符。大量蛆虫集中于胸、颈、手心上取食，显示死前先有外伤。于是根据法院命令，掘出尸体。法医人类学者仔细检查遗骨，在蝇蛆集中取食的部位明显有戳伤，死亡乃被确认为被杀。

案例2　某年2月6日，工人们在林区发现了1具差不多只留下骨骼的死尸。死者29岁，白人男子，静脉吸毒滥用者。他是于前一年9月25日，在失踪1周后被报告的。生前最后遇见他的是其女友，她认为他注射了可卡因，显得焦躁不安。在安装了1台空调器之后就不见了。

尸体脸朝下，部分埋在密林区冻土中。颅骨和下颌骨分别位于躯干之外7.62 m和2.44 m。躯干也只留下骨骼，双臂残存部分肌肉，腿和足部带有肌肉组织且腐败，皮肤干缩。由于动物的噬咬，右臀及其附近有1个不规则的"8"字形洞。许多死的，部分腐烂的大、小蛆虫，还有围蛹，在尸体表面、体腔内以及衣服里被发现。衣服并无不寻常的孔洞或裂口。X射线照片未显示受枪击。除动物噬咬外，亦无其他伤害发现。死后和生前的牙齿记录比较无差异。

腿部肌肉与蛆虫一起被送作毒理学分析。采用种种标准的毒理学方法测试结果，无论组织或蛆虫均呈可卡因阳性。对死者背景详尽调查，显示其长期使用可卡因，严重地吸毒成瘾。根据所有调查结果和毒理学数据，裁定死亡原因为服毒过量。

三、死亡场所与抛尸场所推断

这方面亦包括尸体有否长距离搬动、尸体有否漂浮至特定生活环境等。

案例1　据报道，有一被害人尸体被扔入了美国印第安纳州中南部某小农场的井内。该井被填入了大量的废弃物、轮胎和石块。虽然具体位置不了解，但当调查人员驱车进入该场一堆木头杂物时，马上就发现了数以千计的蝇类正集中在一堆旧轮胎周围飞舞。尸体就在其下的井底，已经腐败，然而尸体上并无昆虫。由于一些杂物的阻隔、干扰，蝇类难以到达尸体，但其气味仍然吸引了大批昆虫。

案例2　某年7月，一穿有部分衣着的白人成年妇女的尸体于马里兰州一填土区被发现。尸体严重腐败，除四肢外，存留软组织很少，头、颈和胸部只留骨骼，颅骨上有大量明显的钝器伤口，许多大蛆虫自头和躯干之下的土中被找到。尸体处于瓦砾、破烂碎片堆放区，除了小草外，别无其他植物遮蔽，直接暴露于阳光下。

所有采集的标本均为伏蝇。虽然它常常于早期到达尸体，但也能在不太新鲜的尸体上生活。随后的试验显示，只有丝光绿蝇是尸体发现地填土区的常见种类。这样就表明尸体是从别的比较遮阴的环境中搬过来的，在那里伏蝇产了卵。

后来查明，死者是当地的一名妓女，惯常周旋于附近州际高速公路上开车的卡车驾驶员中间。推测女尸先在拖车中存放若干天后，因腐败气味严重，驾驶员将其丢弃在孤立的填土区（Lord，1990年）。

四、其他

包括螨类的应用、非尸食性昆虫的应用以及蝇类作为虐待案件的物证，等等。

案例1　1983年8月5日，在美国南加利福尼亚，一位24岁白人女子的尸体在郊外被搜索救援队发现。此裸体女子是被勒致死的，有关织物仍环绕在其颈部。一位负责调查的警官发现她的脚踝、腰和臀部有凸起的红点。这使他想起在肯塔基进行军事演习时，自己也有过相同的情况。在与搜索队员讨论中，了解到他们23人当中，有20人也有类似的斑点。请教昆虫学者后知道，这种情况在南加利福尼亚极其少见。当这位警官查看犯罪嫌疑人的照片时，竟发现亦有类似的斑点。经过2 d多的取样分析

和讯问，最后认定，由于有关恙螨的分布区域有限，可以证明犯罪嫌疑人与死者生前曾同在野外某一地点出现过，进而确证其为凶手。

案例2 20世纪80年代，在美国芝加哥郊区小林地内，有一年轻妇女遭到了一戴滑雪面具男子的袭击，并被强奸。调查者很快发现犯罪嫌疑人并发出逮捕令。从其公寓没收了与受害者描述相似的滑雪面具。审问时，犯罪嫌疑人承认滑雪面具是他本人的，但声称自去年冬天以来从未曾使用过。

调查者发现面具上附有许多苍耳和其他植物碎片。面具及有关植物被送至法庭昆虫学者处供分析之用。仔细检查之后，发现苍耳中有若干小毛虫。随后做了鉴定与发育研究。据记载，此种毛虫1年发生1代，成虫于春天出现，初夏产卵。幼虫从盛暑至夏末在苍耳上生长发育，以蛹越冬。昆虫学者下结论说，这一滑雪面具在强奸发生的当年初夏至盛暑期间肯定在室外使用过。犯罪嫌疑人很快承认了强奸事实。

参 考 文 献

1 Catts EP and Haskell NH. Entomology and death: a procedural guide. Clemson, SC: Joyce' Print Shop. 1991,180

2 Catts EP. Forensic entomology in criminal investigations. Ann Rev Ent. 1992,37:253~272

3 Goff ML. Estimation of postmortem interval using arthropod development and successional patterns. Forensic Sci Rev,1993, 5:82~94

4 Payne JA. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. Ecology,1965,46: 692~702

5 Payne JA, *et al*. Arthropod succession and decomposition of buried pigs. Nature,1968,219:1180

6 Schoenly K, *et al*. A BASIC algorithm for calculating the postmortem interval from arthropod successional data. J Forensic Sci,1991, 36(3): 808~823

7 Smith KGV. A manual of Forensic Entomology. London: British Museum (Natural History), Comstock, 1986. 205

8 范滋德主编. 中国常见蝇类检索表. 第2版. 北京:科学出版社,1992

9 胡萃,马玉堃. 法庭昆虫学的历史、现状及今后展望. 昆虫知识,1995,32:184~186

10 胡萃,王江峰. 第20届国际昆虫学大会上法庭昆虫学论文简要介绍与分析. 昆虫知识, 1997,34: 250~251

11 胡萃,闵建雄,王江峰,等. 法庭昆虫学. 重庆:重庆出版社.2000

12 王江峰,陈玉川,胡萃,等. 丝光绿蝇蛹发育形态学用于死亡时间判断的研究. 中山大学学报, 2000,39 (6A):250~254

13 王江峰,陈玉川,胡萃,等. 丝光绿蝇幼虫发育形态学及其在死亡时间推断中的应用初探. 中山大学学报,2000,39(6A):208~213

14 王江峰. 若干尸食性蝇类形态学及生长发育规律用于死后间隔时间判断的基础研究. 浙江大学博士学位论文,1999

15 王江峰,胡萃,陈玉川,等. 四种尸食性蝇类卵的表面超微结构. 中山医科大学学报,2000,21(4): 10~12

16 王江峰,胡萃,陈玉川,等. 大头金蝇蛹发育形态学用于死亡时间判断的基础研究. 寄生虫与医学昆虫学报,2001,8(4):232~235

17 王江峰,胡萃,闵建雄,等. 粽尾别麻蝇幼虫形态变化及其在死亡时间判断中的应用探讨. 见:全国第六届城市昆虫学术研讨会论文集《城市昆虫学进展》,2001,106~111

18 王江峰,胡萃,陈玉川,等. 粽尾别麻蝇蛹形态变化及其用于日龄判断的初步研究. 见:全国第六届

城市昆虫学术研讨会论文集《城市昆虫学进展》,2001,112～115
19 周红章,杨玉璞,任嘉诚,等. 北京地区法庭昆虫学研究,嗜食性甲虫物种多样性及其地区分布. 昆虫学报,1997,40(1):62～69

第六章 颅脑损伤研究进展

■ 廖志钢 张益鹤

颅脑损伤是法医实际工作中最重要的损伤和最常见的死因之一，历来是国内外法医病理学研究的热点。其研究内容包括颅脑的生物力学特征、损伤发生机制、颅脑损伤的病理形态学、颅脑损伤的经过时间、致伤工具的推断、颅脑损伤的死因和死亡方式等等。随着免疫学、分子生物学理论和技术的迅速发展，颅脑损伤的研究水平，也有了相应的提高。已从损伤大体形态的肉眼观察、组织细胞结构损伤的显微镜观察，发展到分子、基因水平的检测。现根据文献，对颅脑损伤的研究进展作一简要介绍。

第一节 颅脑损伤的基础性研究

一、颅骨的生物力学特征

这是研究较多的内容。多采用人或猴的颅骨，测量它们在不同部位不同力的作用下，对损伤的抵抗性或易损性。其结果显示颅骨的抗压缩强度高于抗弯、抗拉伸强度，而抗剪切强度最低。即是说，颅骨在受外力作用变形时，其受剪切力处最易发生骨折，其次是受抗伸或抗弯曲作用处，而受外力压迫处对骨折的耐受性较强。这种特性决定了颅(顶)骨在受钝物打击的局部外板受压处常不易发生骨折，而受压周围外板弯曲变形、内板拉伸力作用最大处较易发生骨折。与男性相比，女性颅骨的弹性较好。随着年龄的增长，颅骨的抗弯强度和抗压强度下降，这解释了老年人颅骨受外力作用后较易骨折的原因。

实验证实，颅骨的不同部位其生物力学特性不同。其抗骨折的能力，枕骨 > 顶骨 > 额骨 > 颞骨；但抗压能力，颞骨小于额骨和顶骨，这可能与颞骨的板障较薄有关。

(1)颅盖骨的拱形结构和内外密质骨板加中间板障的松质骨的结构特点，使其能分解和缓冲外力作用，保护脑。有人估算如颅盖骨均匀受力，能承受 2 t 的静负荷。

(2)颅骨的球形结构和颅骨之间的骨缝使其具有相当的伸展性，有保护颅骨局部和整体完整性的作用。这种伸展性和保护作用随年龄的增长和骨缝的愈合而减弱。

(3)颅骨受动态外力作用后,力在颅骨上的传导和颅骨产生的应力改变有一定规律性。无论是正面或侧面受到冲击力,均以颞骨最易发生骨折。

二、颅骨骨折发生的力学特点

颅骨骨折发生的基础是外力作用使颅骨发生了不同程度的变形,当颅骨的应变超过其强度极限时,颅骨的变形不可复,就发生了骨折。

颅骨变形有3种类型:颅骨局部变形、颅骨整体变形、对冲性骨折。

1. 颅骨局部变形　此时:①颅骨内板上产生的应力较外板上的应力大得多,因此内板更易发生骨折,尤其是颞骨。而且当内、外板同时发生骨折时,由于主应力方向的偏转,常使内、外板上骨折线方向不一致;②致伤物接触作用的局部呈凹陷性骨折,同时周围产生放射形骨折;③骨折发生的方向有一定规律性,骨折线沿最大伸展应变的垂直方向扩展,常见于应力集中的骨质薄弱区,如颞骨和翼点。

2. 颅骨整体变形　与颅骨局部变形发生骨折的特点不同,颅骨整体变形的骨折有以下特点:①常见于致伤物作用面较大且作用力较强时;②颅盖骨折和颅底骨折同时发生,且颅底由于高低不平,洞缝较多,应力较集中,因此颅底骨折较颅盖骨折多见;③骨折多为线形骨折,而少为凹陷骨折。

颅骨整体变形骨折不仅常见于颅骨两侧或前后两端同时受到2个作用力时,而且也能见于颅骨一侧受到作用面较大、作用力较强的外力作用时,如车祸、高坠、摔跌时颅骨一侧倒地受力时。

3. 对冲性骨折　指颅骨受力后由于力沿颅盖或(和)颅底传导到对冲部位,使对冲部位的颅骨发生变形而骨折。这种骨折最常发生在枕部受碰撞时,对冲部位的颅前窝眶板发生的骨折。

颅骨的变形与其骨折类型、程度还与受伤时头部的状态密切相关。当头部处于能活动的相对静止状态(如坐位、立位)而受打击时,由于颈部的活动和头部的移动,可吸收部分能量或延长外力作用时间,使损伤作用减轻;当头部处于固定状态(如卧位)受打击时,大部分外力作用的能量作用于颅骨,损伤较重;当运动着的头部作用于致伤物时(如高坠、车祸),身体其他部分的能量同时作用于头部,使损伤加重。

三、脑损伤的基础研究

由于人脑解剖组织学上的复杂性以及模拟实验的困难,使其研究进展缓慢。脑组织既不是固体,又不是通常意义上的液体,而是一种半液态黏弹性物体,其成分约78%为水,10%~20%为磷脂,8%为蛋白质,其他为少量的糖类、无机盐和可溶性有机物,其相对密度和黏度都大于水。这些结构上的特点决定了其力学性能的特殊性。即弹性模量低,抗剪应力差,很高的容积模量和很高的不可压缩性。皮肤、颅骨等常用的力学理论不适用于脑。研究脑损伤的机制应用流体力学理论会更为合适,但相关的研究报道尚少。受外力打击后,脑内血管的血液、脑脊液不仅可发生"共振"形成水击(water hammer)流,冲击脑内的神经细胞,而且这些液体还易传导外力的作用,使脑内的血液和脑脊液循环发生障碍,同时反射性引起脑血管的痉挛。机械能的直接作用,加之缺血缺氧性损伤,成为脑损伤的基础。

当然,也不能忽视脑在受到不同外力作用时发生的不同运动形式,如直线加速运动、直线减速运动、旋转运动以及颅内压的改变,都可影响脑损伤的发生。

由于颅骨内板和颅底骨质凹凸不平,颅骨和脑组织解剖结构的分离,以及密度和质量的不一致,当头部受外力作用而运动时,颅骨与脑组织运动速度的不一致性,使得到颅骨停止运动后,脑组织因惯性而继续沿运动方向移动而与颅骨内面碰撞,或者脑组织在颅底上滑动,都可使脑组织受伤。这种脑组织受伤机制在实际中很常见,脑组织的挫伤和挫裂伤也因之最常见于与颅骨直接接触的脑皮质的浅层,而与病理性脑出血的发生部位常位于脑白质深部不同。因为枕骨内板较平坦,无论是枕部或额部受碰撞,

枕叶脑组织都不易发生脑挫伤，而额极、颞极和额叶的底面是脑挫伤最常见的部位。脑干的特殊解剖位置和生物力学特性，也决定了它们在闭合性颅脑损伤中易受损伤的特点。

脑的半液态黏弹性物体特性，也使得其发生的某些损伤呈弥散性分布，肉眼观并无明显的形态学变化。在不少情况下，外力作用并没有发生严重的头皮损伤和颅骨骨折，但由于力的传导和脑的特殊生物力学性能，却发生了严重、甚至致命的脑损伤。这些脑损伤用目前常用的手段能观察到的形态学改变并不明显，这一点以往的教科书上没有被重视而很少叙及，常导致颅脑损伤死因鉴定和致伤物推断上的失误，值得进一步深入研究。

第二节　颅脑损伤的死因鉴定

脑组织内不仅有许多感觉和运动中枢主管着人类的各种活动、意识和情感，而且呼吸、循环中枢也位于其内，因此颅脑损伤是最常见的死因之一。但是，不是只要检见较重的颅脑损伤就将其断定为死因。严格地讲，颅脑损伤中只有脑损伤才有可能致死，任何类型和程度的头皮损伤和颅骨骨折本身并不直接导致死亡，颅内出血也只有压迫脑组织致其变性坏死时，才有可能致死。根据大量的实践经验总结，鉴定颅脑损伤的死因要注意以下几个特点。

一、头皮颅骨损伤与脑损伤的不一致性

一般来说，保护脑组织的头皮和颅骨的损伤程度越重，其内的脑组织损伤程度也越重，也越易于致死。但是，由于前述颅脑的生物力学特性，有时头皮损伤不重，仅表现为受伤局部的轻度擦伤和挫伤，甚至肉眼检查不出明显的擦伤或挫伤，颅骨也无骨折，但却发生了致命的脑组织挫（裂）伤或颅内血肿。这种情况已为国内外法医病理学所公认，其发生率在20%~30%。而且正如上面所述，其中相当一部分脑损伤的病理形态学改变不明显或看起来损伤程度不重，如弥散性脑损伤。或者致命性脑损伤位于较隐蔽的部位（如脑干），而未被缺乏经验的法医检查出来，或由于尸检不规范而被遗漏。

反之，肉眼观察所见的明显的颅内出血或者脑损伤，不一定就是真正的死因。因为不仅这些看起来明显可见的脑损伤是否能构成死因，还有一个损伤程度的问题，如颅内出血要达到一定的量，脑挫伤要有相当的范围，且还与脑损伤的部位密切相关。同样程度的脑损伤，发生的部位不同，其后果可能显著不一样。20~30 ml的颅内血肿，如位于小脑幕上，通常不能致死；如位于小脑幕下，则多可致命。又如局灶性的脑挫（裂）伤，如发生在大脑或小脑，一般也难以直接致死；但如发生在脑干，尤其是延脑，即使肉眼观察损伤不明显，也可构成死因。脑损伤死因鉴定时还需注意一个与疾病死因竞争的问题。如脑血管的先天性畸形（脑动脉瘤、脑血管畸形）、脑血管病变（动脉硬化、粥样硬化）、脑肿瘤、出血性疾病等，都可能在头部造成轻度外伤，甚至自发地发生出血，出血的部位可能在脑膜或脑实质内。如何鉴别脑损伤与脑的疾病同死亡之间的因果关系有时相当困难，可参考相关的专著，在此不赘述。

二、脑损伤形态学改变与脑功能障碍程度的不一致性

脑组织的各部都与一定的功能相联系，某一部位受损伤，就会产生相应的脑功能障碍，临床上出现相应的症状和体征。但是脑损伤的形态学改变与其功能障碍程度往往不一致，是脑损伤的特点之一。

脑损伤除了上述不明显的形态学改变可以导致死亡以外，有时出现显著的脑功能障碍或症状体征，但临床却检查不出相应的损伤形态学改变，即使目前最先进的颅脑CT和磁共振（MRI）技术也不能明确诊断。

反之，有些脑损伤的形态学改变很明显，但却可能没有相应的脑功能障碍的症状和体征出现。有人

认为此类损伤位于所谓脑功能的“哑区”。已有不少关于没有意识障碍的脑挫伤病例报道，也就是说，不是所有的脑挫伤都一定会出现昏迷。

如果缺乏对脑损伤形态学改变与其功能障碍程度可能不一致性的认识，就可能在鉴定中出现失误。以往在法医病理学界以及司法界对死因的认识存在一种误解，认为凡能构成死因的损伤（包括脑挫伤），一定会有明显的形态学改变。若没有检出通常意义上的形态学改变（如组织破碎、出血），就可排除其死因诊断。由此不仅可能导致死因鉴定错误，将形态学改变不明显的损伤死因漏诊，而且有可能将并不是死因的、但形态学改变看起来明显的非致命性病变（如冠心病）或损伤错误地认定为死因，或者致使一些案件由于死因不能鉴定而久拖不决，放纵犯罪或冤枉无辜。

三、脑干损伤在死因鉴定中的特殊地位

脑干由于具有易损性和重要的功能意义的特点，脑干损伤一直是颅脑损伤研究的重点课题。脑干损伤时形态学改变与其功能障碍的不一致性尤为明显。脑干损伤的类型包括脑干横断、挫裂、挫伤出血、弥散性轴索损伤（diffuse axonal injury，DAI）和水肿等。后3种损伤在肉眼观察时其形态学改变可以不明显，但它们同样可以引起死亡。任何有明确头部外伤史者，如伤后立即或很快发生昏迷继而死亡者，都必须想到脑干损伤的可能性，而应对脑干做仔细的检查。肉眼观察能见到的脑干损伤形态学改变，一般即能将其作为死因诊断。即使只能在显微镜下检见的脑干出血、DAI或显著的水肿，在排除其他可能的死因后，也可将其鉴定为死因。

脑干损伤的部位与死亡发生关系密切，其重要性依次为延脑被盖部，中脑、延脑基底部，桥脑被盖和基底部。

脑干损伤有原发性和继发性之分，不仅原发性脑干损伤可以致死，因颅内高压压迫脑干致其缺血、缺氧而继发的脑干损伤出血和坏死，同样可以致死。不过其死亡发生一般较晚，不可能在脑损伤后立即发生。

原发性脑干损伤既可以合并其他颅脑损伤，如颅内出血，大脑或小脑损伤，也可以单独存在。后者被称为单纯性脑干损伤（simple brain stem injury）。

四、颅脑损伤的并发症与死因鉴定

相当一部分颅脑损伤是因其并发症而引起死亡的，此时我们称这些导致死亡的并发症为颅脑损伤的直接死因（immediate death cause），而原发性颅脑损伤为根本死因（underlying death cause）。下述几种能成为颅脑损伤直接死因的损伤或病变以往多被忽视。

（一）弥漫性外伤性脑水肿

这种脑水肿不同于常见的局限性脑水肿，水肿呈弥漫性地分布于脑的各组成部分。多见于头部受到较大作用面积的致伤物打击后形成的闭合性颅脑损伤，尤常见于婴幼儿，有时也能见于成人。

它常是DAI、弥漫性或弥散性脑挫伤的并发症，但有时可能检查不到原发性脑损伤，仅见弥漫性全脑水肿，有人称其为原发性外伤性脑水肿（primary traumatic cerebral hydrops）。此时颅脑外伤后不一定有明显的意识障碍，至少经过4～10 h，一般1～2 d后，因脑水肿发展到高峰导致颅内高压时，伤者才出现昏迷和生命体征的改变。尸检时全脑重量显著增加，可达1 600～1 700 g以上（正常成人平均脑重1 300 g），有时可同时检见上矢状窦或大脑大静脉内的外伤性血栓形成、局灶性蛛网膜下隙出血及表浅性脑挫伤等损伤改变。弥漫性脑水肿的死亡率可高达40%，小儿则可达50%以上。

（二）应激性溃疡出血（stress ulceration and bleeding）

应激性溃疡出血是指重度颅脑损伤后食管、胃和十二指肠的急性出血性黏膜糜烂（也称Curling溃

疡)和出血。临床特点为重度脑外伤后几天,在事先毫无自觉症状,也无消化管溃疡史的情况下,突然出现无痛性上消化道大出血或穿孔,且以大出血多见,多呈间歇性。死亡率高达50%以上,直接死因为急性失血性休克。

糜烂溃疡的部位可从食管、胃、直到十二指肠,但胃窦部一般不被累及。病变呈多发性,形状不规则,范围较大而表浅,一般多侵犯黏膜层,罕有穿过黏膜肌层者。以上特点可以与消化性溃疡鉴别。其发病机制尚不清楚,可能与多种因素有关,现认为主要与重度损伤后副交感神经的兴奋有关。有人认为它占各种原因的上消化道出血的20%~25%。除颅脑外伤外,还可见于其他严重创伤(如烧伤)、大手术、全身化脓性感染、长期低血压、休克、慢性重症功能衰竭、急性酒精中毒、服用水杨酸制剂、长期或大量服用肾上腺皮质激素的人。

相似的出血病变也能见于重度颅脑外伤者的下丘脑和肾上腺(华-佛综合征),重者也能致死。

第三节 外伤性颅内出血

一、外伤性蛛网膜下隙出血

外伤性蛛网膜下隙出血(traumatic subarachnoid hemorrhage, TSH)能见于任何类型的头部外伤时,一般文献认为其占外伤性颅内出血的60%以上,是颅脑外伤常见死因之一。其法医学鉴定的关键是与病理性蛛网膜下隙出血的鉴别,因为后者的发生率也很高。以往教科书和法医学专著中,都认为TSH与病理性蛛网膜下隙出血的发生部位有显著不同,TSH多见于大脑穹隆部,呈多灶性分布在脑挫伤周围,两侧大脑半球出血常呈不对称性分布;病理性蛛网膜下隙出血则一般聚积于脑底部,出血量常较大,两侧分布对称。实际上,上述TSH是并发于脑挫(裂)伤的一种类型。近些年受到重视的一种称为原发性TSH或孤立性脑底部TSH者,其分布特点与上述病理性蛛网膜下隙出血相同。发生原因和机制是头部受到外伤后因过度后仰或扭转,而使脑底部动脉撕裂,出血进入脑底部聚积,并能扩散进入脑室系统。脑实质本身可以没有显著的损伤改变。多见于下颏、一侧耳后受钝力打击(如拳击)时,撕裂的脑底动脉以椎动脉和大脑后动脉多见,也能见于脑底动脉后部的其他分支,甚至是由于颅外椎动脉撕裂出血逆行向上进入颅内脑底部蛛网膜下隙。姚青松等近来研究认为,除非椎动脉本身存在病变或发育异常,或颅底损伤严重,否则椎动脉不易撕裂出血。他们认为由脑底动脉主干发出而直接进入脑实质内的穿通支动脉,因其管壁菲薄仅有内皮,中膜平滑肌少或缺如,以及呈直角分出,游离度小,周围无组织保护和固定等,而易因牵拉而撕裂或断裂出血。由于这种出血常呈血肿形式压迫脑干,又因其为动脉性出血而发生急促,故死亡率不仅高,死亡发生也很快,有时表现为头部外伤后即时死亡。如果尸检时忽略了对脑底动脉撕裂的检查,很有可能将这种TSH误诊为病理性蛛网膜下隙出血。当怀疑这种TSH时,尸检时应仔细取出脑,不损伤脑底动脉环,用流水缓缓冲洗掉脑底部的凝血块,仔细检查脑底动脉各部分支(包括穿通支)有无撕裂或断裂。如仍不能确定时,可将一侧椎动脉和左右颈内动脉结扎,用注射器向另一侧椎动脉内注入清水或有色液体,可见血管破裂处液体流出。再于此取材做病理切片,可在血管壁内检见出血征象,死后血管损伤则无。

饮酒与蛛网膜下隙出血的关系也受到国内外的重视,过度饮酒后容易发生蛛网膜下隙出血,其不仅见于TSH,也能见于病理性蛛网膜下隙出血。

二、单纯性外伤性硬膜下血肿

单纯性外伤性硬膜下血肿(simple traumatic subdural hematoma)远较外伤性硬膜外血肿多见。以往法医病理学著作中沿用临床的分类,按血肿临床症状和体征出现的早晚,将其分为急性、亚急性和慢性

硬膜下血肿3类。硬膜下血肿可因外伤致联系脑组织与蛛网膜或硬脑膜窦的桥静脉撕裂出血所致;但多数由于脑挫裂伤灶内皮质动脉或(和)静脉破裂,或者皮质脑内血肿向硬脑膜下隙穿破引起。有人将第一种原因发生的血肿称为单纯性硬膜下血肿,而将第二种原因发生的血肿称为复合性硬膜下血肿,指除硬膜下血肿外还有脑挫裂伤或脑内血肿者。两者不仅发生机制不一样,而且病理变化和临床表现也迥然不同。

单纯性外伤性硬膜下血肿的头部外伤常较轻,受伤头皮局部常仅检见擦伤和(或)挫伤,甚至检不出明显外伤,颅骨亦无骨折,血肿广泛覆盖于伤侧大脑表面,不伴有脑挫裂伤,或仅伴轻度脑挫伤。伤后一般无或仅有轻而短暂的意识障碍,多有较长的中间清醒期,而后出现血肿压迫及颅内高压症状。由于其中间清醒期较长,可表现为亚急性和慢性硬膜下血肿的特点。复合性硬膜下血肿者的头部外伤常较重,多伴颅骨骨折、脑挫裂伤或脑内血肿,其脑挫裂伤可能是脑直接冲击伤,但更多见于脑对冲伤。血肿分布多较局限,常位于额极、颞极及颞叶下面等脑挫裂伤好发部位。由于出血较多及同时存在的脑损伤,伤者原发性昏迷持续时间较长,常与随后继发的颅内高压和脑疝压迫脑干所引起的继发性昏迷相重叠,使昏迷不断加深,多无中间清醒期或意识好转期。一般仅有急性硬膜下血肿的表现。

认识外伤性硬膜下血肿的这种分型,有时可以根据其病理学改变、临床症状结合案情调查,将头部不同部位先后遭受不同人的打击后致命性血肿与不同打击的因果关系鉴别开来。如某男,26岁,一日上午4时许酒后与人纠纷中面部被拳击而仰面倒地,短暂昏迷后骑上他人的摩托四处寻找对方以图报复未果。下午7时在亲自驾摩托滑行时,因撞倒正骑自行车路过的青年又发生纠纷,头部再次被拳击而倒地昏迷,并持续至次日晨未醒而被送医院检查。头部CT扫描报告右额颞顶部广泛性脑挫裂伤并硬膜下血肿及右小脑幕切迹疝,经开颅手术抢救治疗无效,于伤后第15天死亡。法医尸检所见基本同CT报告。显然其复合性硬膜下血肿不能用第一次拳击来解释,应是第二次被拳击所致。

第四节 脑损伤

在以往法医学著作中,将脑损伤分为脑震荡、脑挫伤及脑内血肿三大类;而现在对脑损伤的认识有了深化,脑损伤类型也增多了。

一、脑震荡与弥散性轴索损伤

临床上将脑震荡作为最轻度的一种脑损伤,一种短暂的功能性脑损伤。但法医学实践中很早以前就有致死性脑震荡(fatal brain concussion)的报道,其致死性后果与脑震荡的本来概念显著矛盾。自从1956年Strich首次报道弥散性轴索损伤(diffuse axonal injury, DAI)以来,已有不少关于DAI的报道,有人认为以往报道的所谓致死性脑震荡的实质是DAI。

DAI的发生率较高,尤多见于道路交通事故损伤(81%),其次为高坠伤(10%),也能见于头部被钝器打击时(8%)。重度DAI的死亡率高达50%以上。与脑挫(裂)伤不同的是DAI的病变主要在白质,表现为白质内弥散分布的出血、轴索肿胀变形或折断、轴索断端呈球状的回缩球(retraction ball),以及胼胝体和脑干的局灶性出血、梗死等病变。

DAI死者的脑,肉眼观察并无显著的出血、挫伤等病变,仅见弥漫性肿胀和白质散在出血点。病理组织学检查在HE染色切片上也多无特殊病变。典型的具有特征性的回缩球改变一般在伤后72 h才出现,而且用特殊的银浸润染色法才能使其清晰显示。否则,很容易将其诊断为致死性脑震荡,或者结论为死因不明。

二、脑挫(裂)伤的类型

脑挫伤与脑挫裂伤的发生机制、病变和临床表现基本相同,仅只有程度轻重的差别。脑挫伤仅限于受伤脑皮质的出血和破坏,局部脑皮质的外形和软脑膜保留完整。而脑挫裂伤局部的脑实质及其表面的软脑膜有时连同硬脑膜均破裂。现将两者放在一起叙述,按形成的机制不同,分为以下几类。

1. 冲击性脑挫(裂)伤 见于头部处于能活动的相对静止状态而被钝力打击后作直线加速运动时,损伤位于头部受伤的直下方脑组织。

2. 对冲性脑挫(裂)伤 见于运动着的头部受外力作用后作直线减速运动时,损伤位于受伤局部的对侧脑组织。

3. 中间性脑挫(裂)伤 见于头部中线附近受打击时,或头部受伤后脑组织作水平旋转运动时,损伤位于大脑纵裂附近。

4. 滑动性脑挫(裂)伤 见于头部受外力作用后在颅底滑动时,脑组织与高低不平的颅底骨板摩擦所形成的损伤,多见于额叶及颞叶底面。

5. 骨折性脑挫(裂)伤 见于凹陷性、孔状和粉碎性颅骨骨折时,骨折片直接对脑组织形成的损伤。

6. 脑疝性脑挫伤 指脑疝部位被挤压的脑组织缺血、出血而发生的脑损伤。

以上脑挫(裂)伤的分类可用来判断外力作用的方式,尤其是前3种脑挫(裂)伤意义更大。

三、迟发性外伤性脑内出血

迟发性外伤性脑内出血(delayed post - traumatic intracerebral hemorrhage)又称外伤性晚期脑内出血、外伤性继发性脑内出血等,指脑内出血或血肿发生在头部外伤后数天、数周,甚至更长的时间。自从CT扫描应用以来,其发生率并不少见。其脑内的出血并不是外伤的直接结果,而是先有局部脑挫(裂)伤,或局部脑软化坏死、水肿,导致局部脑缺血、血管变性或炎症等病变,以后因某种原因伤者血压突然上升,使已有病变的血管破裂出血。其出血部位以大脑白质和基底节多见,常呈大片状或多发性,亦易侵入脑室系统而致死。因其与病理性脑出血无特殊显著差别,所以又有人称其为迟发性外伤后脑中风(delayed post - traumatic apoplexy)。其鉴定须病理检查检见局部有陈旧性脑挫伤和血管变性、炎症等病变,结合死前头部CT扫描损伤初期未见脑出血,后期检见脑出血而下结论。

第五节 脑损伤的实验研究

脑损伤的实验研究是脑损伤研究的重要形式。因为它可以人为控制实验条件,合理设计对照,减少和避免死后自溶等因素的干扰,尤其适用于损伤机制、损伤时间等的研究。由于实验动物和人的种属差异性,实验所得结果不能简单应用于人。但如果将动物实验研究与尸体材料研究很好地结合起来,无疑将大大推动脑损伤研究的深入发展。

一、动物实验模型的建立

目前脑损伤实验研究的重点是闭合性脑损伤,包括闭合性弥漫性脑损伤(包括DAI)、原发性脑干损伤以及蛛网膜下隙出血。已建立的较成熟的动物脑损伤模型主要有以下几种:

(一)自由落体撞击模型

由Marmarou A等于1994年首次报道。将实验动物麻醉后俯卧位放置于海绵垫上,在其颅骨外板

粘接一块不锈钢垫，在钢垫上方以不同高度和不同重量的重锤用自由落体方式撞击钢垫，造成不同程度的闭合性脑损伤。该模型制作和操作简便，脑损伤明显，缺陷是不易准确控制打击强度，不能制作精细分级的动物脑损伤模型，致伤过程中实验动物死亡率较高。

（二）颅骨钻孔液压冲击模型

由 Dexon 于 1987 年创立。将实验动物颅骨钻孔后，在保持硬脑膜完整的条件下，用液压冲击颅骨钻孔处的脑组织制作脑损伤模型。比较上一模型的优点是能精确控制损伤的程度，制作较精确分级的脑损伤模型，不受颅骨个体差异的影响，可重复性好。但缺陷是模型制作复杂，致伤方式与实际案件中脑损伤形成方式有一定差异。

（三）快速短暂旋转致伤模型

方法是将动物头部固定后，在冠状面进行快速和短暂的单向旋转，旋转角度控制在 60°～150°。该模型适用于猫、犬、猪及灵长类等较大动物而不适用于小动物，模型所需仪器设备要求较高。

（四）单摆式机械打击模型

该法将动物四肢固定于单摆式机械打击装置上，使头颈部略高于躯干部，自由落下单摆打击动物头部。单摆为均匀的长方形金属块，其质量、重心、半径及起始角度由实验者根据实验目的控制和制作。单摆落下时打击动物的枕外隆突或其他部位。适宜于制作脑震荡、DAI 及蛛网膜下隙出血的小动物模型。

（五）其他

还有簧片弹击、直接锤击等多种脑损伤动物模型。也可应用体外脑细胞培养方式，对培养的神经细胞制作牵拉、挤压、切割等损伤模型，观察神经细胞对损伤的反应，以及观察其对相应处理的反应。

二、研究方法

对脑损伤的研究方法除了传统的肉眼观察、常规 HE 染色切片镜检以外，一般采用免疫组织化学、原位杂交、逆转录聚合酶链反应（RT－PCR）等方法，定性定量研究脑外伤时不同时间经过一些蛋白质及其 mRNA 的表达水平。

这些被研究的蛋白包括被称作立即早期基因的 c－fos 和 c－jun 蛋白、热休克蛋白 70（heat shock protein70，HSP70）、纤维连接蛋白（fibronectin，FN）、胶质纤维酸性蛋白（glial fibrillary acidic protein，GFAP）、S－100 蛋白、波形蛋白（VIM）等及其相应的 mRNA，以及神经生长因子（nerve growth factor，NGF）、神经营养蛋白（neurotrophins，NTs）、成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor，FGF）、转化生长因子（transforming growth factor，TGF）等细胞因子及其受体的表达变化，现已取得一些可喜的进展，证明在脑损伤后上述蛋白及其 mRNA、细胞因子及其受体的表达均增强，并有一定的时间性变化，提示进一步的研究有可能将它们用作脑挫伤经过时间的推断。可惜利用人尸检材料的研究较少，仅见少数脑挫伤尸检材料星形胶质细胞（astrocyte，Ast）、S－100 蛋白及 GFAP 的研究。据报道，在脑挫伤早期（5 min以内），即可在常规 HE 染色切片上观察到明显的 Ast 反应性肿胀和增生，以后随脑挫伤时间的延长 Ast 肿胀渐渐消退，而其数目渐渐增多，利用图像分析可进行定量研究。

生物芯片（biochip 或 bioarray）是近 10 年才发展起来的根据某些生物大分子间特异性结合的原理，将生化分析过程集成于芯片表面，从而实现对 DNA、RNA、多肽、蛋白质以及其他生物大分子的高通量快速检测的一门技术。目前最常用的生物芯片是基因芯片（gene chip 或 DNA microarray）中的基因表达谱芯片，它可以检测组织细胞众多基因在 mRNA 表达水平的变化，其中包括上述脑外伤有关蛋白、细胞因子等 mRNA 表达水平的变化，有可能使脑损伤的研究上升到基因水平。

参 考 文 献

1 徐波,汪德文,赵忠凯,等. 用 GFAP 和 VIM 表达推断脑损伤时间的实验研究. 中国法医学杂志,2000,15(1):4

2 姜忠华,徐小虎,祝家镇. 大鼠脑干损伤后星形胶质细胞免疫组化改变的实验研究. 中国法医学杂志,1998,13(1):16

3 周伟. 脑外伤后短时间内死亡尸体脑干病理变化. 中国法医学杂志,1999,14(1):9

4 吴旭,汪德文,张国华. 定量检测 NSE 和 S-100 推断脑挫伤时间的动物实验. 中国法医学杂志,1999,14(3):141

5 陶陆阳,汪德文,刘萍. 人脑挫伤后 GFAP、PCNA 的法医病理学研究. 法医学杂志,2000,16(3):137

6 周高举,秦启生. 实验性脑挫伤后神经元和星形胶质细胞反应的时间性变化. 中国法医学杂志,1998,13(1):7

7 王克万,尹志勇,杨志焕,等. 培养大鼠皮层星形胶质细胞牵张损伤模型. 中华创伤杂志,1999,15(2):113

8 吴家文,汪秉康,万弈,等. 脑皮质挫伤组织的定量自动图像分析——存活时间与神经细胞及胶质细胞反应的关系. 中国法医学杂志,1989,4(1):1

9 汪秉康,吴家文. 11 例脑皮质挫伤远区及脑干病变的光镜和扫描电镜观察报告. 中国法医学杂志,1995,10(2):76

10 张国华,汪德文,吴旭. 迟发性外伤性脑内血肿脑组织 GFAP、S-100 和 NSE 的免疫组 织化学研究. 中国法医学杂志,1998,13(3):158

11 邓平,姚青松,徐小虎,等. C-fos 蛋白及其基因表达改变用于脑干损伤早期死后诊断的可能性研究. 中国法医学杂志,2000,15(3):136

12 盛延良,卢凤美,曹会峰,等. 猫脑震荡与脑损伤的实验研究. 中国法医学杂志,2000,15(1):7

13 张永亮,汪秉康,廖志刚,等. 大鼠侧位液压冲击脑损伤动物模型及病理学改变. 华西医科大学学报,1999,30(4):363

14 张永亮,李灵芝,辛军平,等. Fos 蛋白和 Jun 蛋白在侧位液压冲击脑损伤大鼠大脑皮质的表达. 中国危重急救医学,2000,12(12):710

15 张永亮,李灵芝,刘兴太,等. 大鼠液压冲击脑损伤热休克蛋白 70 基因表达的研究. 中国应用生理学杂志,2000,16(2):104

16 骆纯,朱诚. 创伤性脑损伤基因表达的改变. 国外医学·生理病理与临床分册,1998,(18):53

17 易旭夫,陈晓刚,邓振华,等. 拳击头部致正常基底动脉破裂死亡 1 例. 法医学杂志,1999,15(4):233

18 姚青松,彭兴平,梁赏猷,等. 头外伤短时死亡者脑干组织学改变的观察. 法医学杂志,1999,15(3):129

19 于晓军,张雪梅,肖飞,等. 大鼠闭合性脑损伤扫描电镜观察. 法医学杂志,1999,15(1):3

20 周伟. 原发性脑干损伤的研究进展. 法医学杂志,1999,15(1):55

21 王慧君,饶广勋,朱少华,等. HSP70、NF 应用于脑损伤时间推断的实验研究. 法医学杂志,2000,16(3):132

22 陈龙,陈忆九,刘宁国,等. 大鼠脑挫伤后 FN 表达与损伤时程关系的研究. 法医学杂志,2001,17(1):1

23 陈龙,陈忆九,李中. 大鼠脑挫伤后组织学及 Bax/Bcl-2 表达的研究. 法医学杂志,2000,16(4):211

24 周伟.8 例原发性脑干损伤尸检分析.法医学杂志,1996,12(3):149

25 刘体伦.外伤性硬膜外血肿头皮无明显损伤 8 例.法医学杂志,1996,12(1):36

26 张国华,汪德文,李庆生,等.迟发性外伤性脑内血肿脑组织病理形态学研究.法医学杂志,1998,14(1):1

27 张益鹄.外伤性蛛网膜下隙出血.法医学杂志,1998,14(4):249

28 孙洪涛.颅脑损伤的生物力学研究概况.见:中国法医学会编.第五次全国法医学术交流会论文集.北京.1996,40~42

29 于晓军,肖飞,颜有仪,等.大鼠外伤性蛛网膜下隙出血模型的建立及其与酒精关系的研究.见:中国法医学会编.第五次全国法医学术交流会论文集.北京.1996,43~46

30 卿太苏,刘世沧,汪兼康.弥漫性轴索损伤的法医病理学研究.见:中国法医学会编.第五次全国法医学术交流会论文集.北京.1996,69~71

31 周伟.脑干损伤早期诊断的原位杂交分子生物学研究.见:中国法医学会编.中国法医学最新科研与实践.北京:中国人民公安大学出版社,2000,14~16

32 张益鹄.急性硬膜下血肿的病理学类型与先后不同部位头部外伤因果关系的鉴定.见:中国法医学会编.中国法医学最新科研与实践.北京:中国人民公安大学出版社,2000,26~27

33 姚青松,于景礼.穿通支断裂——创伤性脑底蛛网膜下隙出血的主要死因.见:中国法医学会编.中国法医学最新科研与实践.北京:中国人民公安大学出版社,2000,28

34 何军,张益鹄.脑外伤后星形胶质细胞反应.法律与医学杂志,2001,8(1):36

35 汪兼康,陈龙.100 例重度颅脑损伤尸检分析.法律与医学杂志,1995,(2)2:50

36 汪兼康,吴家文.弥漫性轴索损伤的扫描电镜观察.法律与医学杂志,1994,(1)3:100

37 张益鹄.颅脑损伤.见:张益鹄主编.法医病理学理论与实践.武汉:湖北科学技术出版社,1996,43~81

38 闵建雄.颅脑损伤.见:闵建雄编著.法医损伤学.北京:人民公安大学出版社,2001,133~179

39 江基尧,朱诚.现代颅脑损伤学.上海:第二军医大学出版社,1999

40 王忠诚.神经外科学.武汉:湖北科学技术出版社,1998

41 Lorberg FM, Tovik A. Brain contusions: the time sequence of the histological changes. Med Sci Law, 1989,29:109

42 Landis DMD. The early reactions of non-neuronal cells to brain injury. Annu Rev Neurosci, 1994,17:133

43 Gennadij R, Marion B, Chistian UA, *et al*. Neuroglial activation repertoire in the injury brain: graded response, molecular mechanisms and cues to physiological function. Brain Research Reviews, 1999,30:77

44 Hausmann R, Rieb R, Fieguth A, *et al*. Immune histochemical investigations on the course of astroglial GFAP expression following human brain injury. Int Legal Med, 2000,113:70

45 Hicks RR, Numan S, Phillon HS. Alteration in BDNF and NT-3 mRNAs in rat hippocampus after experimental brain trauma. Mol Brain Res, 1997,48(2):401

46 Mocchetti I, Wrathal JR. Neurotrophic factors in central nerve system trauma. J Neurotrauma, 1995,12:853

第七章 道路交通事故的法医学鉴定

■ 刘小山 刘 东

道路交通事故是指车辆驾驶人员、行人、乘车人以及其他在国家交通法规中规定的道路上进行与交通有关活动的人员，因违反《中华人民共和国道路交通管理条例》和其他道路交通法规的行为、过失造成人身伤亡或者财产损失的事故。道路交通事故法医学(forensic medicine of road traffic)是应用法医学的理论和技术解决道路交通事故中有关人身伤亡鉴定的科学。

第一节 道路交通事故的现场与痕迹调查

一、道路交通事故现场调查

道路交通事故现场是指发生道路交通事故的车辆、人、畜及与事故有关的痕迹、物证等所占有的空间。据现场的实际情况，道路交通事故现场可分为原始现场和变动现场两大类。变动现场中还包括伪造现场、逃逸现场及恢复现场。

原始现场指没有遭到任何改变和破坏的现场。车辆、人、畜和一切与事故有关的痕迹、物证均保持事故发生后的原始状态。原始现场能完整地保持事故发生后时间、空间变化状态，可以为事故原因的分析及事故责任的鉴定提供客观的依据。

变动现场指由于某种人为或自然的原因，致使现场的原始状态有了改变。正常变动现场主要原因有：为将伤者送医院抢救移动了车辆停止和伤者倒卧的位置；执行任务的消防、救护、警备、工程救险车发生事故后因任务的需要驶离了现场；风吹、雨淋、下雪等天气影响导致现场痕迹的破坏；主要交通干道或城区繁华地段发生道路交通事故需立即排除。伪造现场是变动现场的一种，是当事人为了逃避责任、毁灭证据或达到嫁祸于人的目的，有意改变或布置的现场。伪造现场特征是现场的表现不符合事故发生的客观规律，物体的位置与痕迹形成的方向明显矛盾。逃逸现场也是一种变动现场，肇事人为了逃避责任驾车潜逃而导致现场变动，其特征与伪造现场相同。恢复现场是指在现场撤除后，根据现场调查笔

录等材料重新布置的现场。

（一）现场调查的内容

根据交通事故的性质，现场调查的内容包括5个方面：①用以确定事故以及与事故有关方面的时间关系；②调查事故发生地点以及车辆、物体、人体、尸体、牲畜、散落物和道路设施等的位置及关系；③调查车辆、道路、道路管理设施和自然条件对事故的影响；④调查当事人的心理状态、身体和精神条件等方面对造成事故的影响因素；⑤调查人员伤亡、车辆损失情况及原因。

上述调查的依据是以现场的客观存在为主。由于当事人和目击者的陈述往往受本人和所处环境的局限而带有不真实甚至虚假的成分，所以当事人和证人提供的材料，只能作为现场实际材料的印证和补充。

（二）现场调查的方法

1. 掌握现场概况，落实保护措施　到达现场后先要向保护现场的民警和群众了解现场是否有变动，如有变动，应迅速弄清变动的原因和移动的范围，并根据肇事人或证明人提供的事故发生时的情况恢复原状。根据报案人、肇事人和证明人提供的事故发生经过，巡视现场周围的实际情况，以便确定现场调查的范围。根据工作需要重新布置现场警戒范围，并在现场两端设立标志、标灯或人员。特别在夜间和视线不好的情况下，要注意防止发生连锁事故。在有汽油等可燃物质泄露的现场，要防止发生火灾或爆炸。对已发现的尸体、血迹、痕迹、损坏的物体和其他散落物等均要加以保护。

2. 实地调查的基本方法　对肇事车辆和痕迹比较集中、范围不大的现场，可以以肇事车辆或以接触方位为中心由内向外进行调查。对肇事车辆和痕迹较分散、范围大的现场，为防止远处痕迹被破坏，可以从周围向中心由外向内进行调查。对比较分散的重大伤亡，特别是逃逸事故现场，可以从事故发生起点向终点分段调查或从容易被破坏的路段开始进行调查。

（三）现场调查的基本步骤

现场调查的重点是发现、搜集及提取能判明事故原因和责任的痕迹、物证。如现场上的各种擦划和制动痕迹；肇事双方车、物接触部位及方位；肇事车辆和物体上的痕迹及附着物等物证。基本上可归纳为静态调查和动态调查两方面。

静态调查是交通事故现场的初步调查，即调查事故发生后未经变动的现场状态。调查时不改变物体和痕迹的状态与位置，而通过现场摄影、录像、测量、记录和制图等手段，如实予以记载。静态调查要达到如下目的：确定现场方位；确定现场中人、车、物及与事故有关的痕迹、散落物各自的方位及相互的联系；确定事故接触点的位置，包括物与物、物与人接触时的部位和各自在道路上的方位；确定事故车辆挡位、轮胎、气压、装载、点火开关位置、雨刷器效能、夜间照明灯及刹车性能等。静态调查作为现场调查的第一步结束后，可根据具体情况移动车辆、尸体、物体的位置，继而进行动态调查，但要注意在移动物体前，应在原位做好标记以备复查。

动态调查即对现场实物、痕迹形态进行的全面调查。因为在静态调查过程中，由于不能改变现场的原始状况，有些痕迹、物证势必调查不全，必须移动以后才能进行。动态调查必须在不破坏痕迹、物品原有形态的前提下，进行翻转或移动尸体、车辆等的位置。如移动时有破坏痕迹的可能，必须采取照相或录像等手段保全和测量记录后，在见证人或当事人参加的情况下，运用技术手段先进行物证提取。动态调查要达到的目的是：发现和搜集在静态调查中未能发现的痕迹和物证，如人体组织、毛发、漆片、手印等。用简单的实验方法，如痕迹形状和位置对比、血痕鉴别等，分析物体特征与痕迹形成的原因。根据车辆或行人运动的规律，分析现场中各种现象的产生和变化的原因。动态调查要查清现场关键问题的一些细节，并对重要痕迹、物证进行细目或比例拍照。如果现场光线或技术手段不具备，应将车辆、物体、痕迹妥善地保全下来，并加以详细记录，待条件具备或聘请有关技术人员进行鉴定。

静态调查和动态调查，是事故现场调查2个连续的工作程序，并不是要求对于现场所有的东西都必须进行2次重复的检验。而是在对每个物体和痕迹进行了初步检验、拍照和记录了它原有形态、位置及

它们之间的相对位置关系后，再对那些有必要进行移动的物体进行详细、全面的检验。切不可看一点动一点，以至破坏了现场的原始状态，给全面掌握原始现场的内在联系造成困难。所以，静态调查是动态调查的准备，动态调查是静态调查的继续。

经过现场调查除了形成各种具体的（如制图、拍照等）调查材料外，还应制作现场调查笔录。它是其他调查材料不足部分的补充和说明，是调查工作的纪实，是认定事故责任和追究肇事人刑事责任所必需的诉讼证据材料。

（四）现场调查中法医工作注意事项

1. 要严格按照现场调查工作人员的分工各负其责，密切配合，认真做好现场调查及记录。

2. 注意保护肇事车辆、财物。当即提取车、物上的检材，必要时应通知事主，尽量不改变原物的形态。对需要继续调查的物品和扣留的车辆，由现场指挥员指定人登记造册，妥善保管，不得损坏。

3. 如需要尸体检查、解剖检查或死者身份尚未查明时，由当事人单位将尸体妥善保存并及时进行法医检查。

4. 经现场调查负责人确认现场无继续保留必要后，要迅速加以清理；撤除现场警戒线，保证道路畅通。

5. 严格保守秘密。在现场调查时，一定要注意工作方式，避免发表带倾向性的意见，更不能泄露有关现场的情况或随意在群众中谈论对事故的看法。

6. 禁止在现场调查中吸烟，防止引燃易燃、易爆物品。

二、交通事故的痕迹发现

（一）道路交通事故痕迹

1. 地面痕迹　地面轮胎痕迹指车轮轮胎相对于地面作滚动、滑移等运动时留在地面上的印迹。按印迹形成的种类分为：滚印、压印、拖印、侧滑印。

地面轮胎花纹的印迹是车轮轮胎的反映，不同的轮胎花纹种类、花纹形状、轮胎宽度、周长、规格，在地面痕迹上的反映是不一致的。利用这一特点，可通过痕迹推断车辆种类、车型及行驶方向。特别是轮胎为人字和八字形花纹的痕迹，花纹展开方向为车行进方向。要注意其他痕迹和人体倒卧位置的关系，例如轮胎拖印和尸体的关系，血泊的形成及有无车轮从血迹上压过的痕迹。与交通事故有关的地面散落物，例如，油漆片、玻璃碎片、人体物质和衣物等。地面上遗留物和附着物，例如，轮胎印上的橡胶颗粒、地面玷污的各种油类等。

2. 车体痕迹　车体痕迹是指车辆在交通事故中与其他车辆、人体、物体相互接触造成车辆上的印迹和形状变化的痕迹。

（1）车辆受力部位和接触部位　由于碰撞后形成的变形痕迹。

（2）车辆部件损坏、断裂和变形的痕迹　例如，门、窗玻璃碎裂痕迹，车灯破坏痕迹，油漆脱落部位的痕迹等。

（3）车辆上的黏附物　如毛发、血液和人体其他物质。

（4）车体刮挂的各种织物纤维　如衣服上勾挂、撕裂的织物纤维。

3. 人体痕迹　人体痕迹是指人员在交通事故中与车辆、道路、物体接触，留在伤亡人员体表和衣着上的印迹和损伤痕迹。

（1）衣服上的钩挂、撕裂、开缝、纽扣脱落、黏附油漆、油类、轮胎印迹。

（2）鞋脱落的位置，鞋底的挫划痕迹。

（3）死者体表痕迹和损伤特征。

（4）骨折、肢体离断、组织外溢、脏器脱出。

(5)喷溅、滴落的血痕、血流等痕迹。

(6)在车辆内遗留的指纹和足迹。

4. 其他痕迹　其他痕迹是指与交通事故有关的道路设施,如护栏、桥栏、树木上面的碰撞、刮擦等痕迹,包括现场遗留的自行车、摩托车等车辆和物体的痕迹。

(二)交通事故痕迹的发现

交通事故现场的痕迹和物证,主要遗留在现场中心及周围路面、路旁、车体、物体、受害人身体、尸体、服装上。对这些痕迹只要细心认真地寻找,是不难发现的。有些细微的痕迹,如毛发、灰尘、附着物、分离物、血迹等,借助放大镜或一定方向的光线也是可以发现的。

由于现代科学技术的发展和在交通事故现场调查中的应用,过去用肉眼难以发现的痕迹,现在可以发现了。如利用红外摄影,可以发现难以辨认的轮胎压迹。特别是现代发光技术的应用,为痕迹发现提供了新的手段。辐射体发射的光,波长在光谱的近紫外、可见光或近红外区叫做发光。运用发光技术在痕迹发现上具有非破坏性和费用小,不需要分离其他混合物的优点。利用发光技术可以检验沥青、树脂、矿物油,其灵敏度可以测出1 mg样品中少到1%的沥青。车胎印痕也可以发出荧光,这是因为橡胶中的添加剂、加工油、抗老化剂及多核芳香烃产生的。

(三)痕迹的鉴别分析

道路交通事故的发生,一般都会在肇事车上反映出一定痕迹,特别是车与车、车与物碰撞形成的痕迹较为明显。检查车辆痕迹的顺序一般是:由前到后,从上到下,从有关一侧向无关的一侧。一般来说,交通事故现场的所有痕迹,是事故双方或多方车辆(及人、物)以运动形式,从接触到完全静止的过程中所形成的,情况不一,而且十分复杂。因此,在检查中要认真鉴别、分析痕迹的特征,辨认车、物上的痕迹是否相互吻合,防止错误认定痕迹。

1. 机动车撞、刮痕迹的鉴别　机动车相互碰撞、刮擦所形成的痕迹部位,一般在车前或车身的一侧,而且车体破损多为大片状或长条状。机动车正面相撞前部痕迹一般反映在前保险杠、车号牌、前灯圈、叶子板和挡风玻璃框等处,车辆前部外表结构有变形、撕裂、破碎,痕迹特征一般呈片、块状凹陷痕,并有破损部的表漆及泥土脱落,有时在痕迹上附着对方车身上的漆皮等物质。机动车同方向互刮形成的痕迹,在车身上反映的痕迹规律,一般是由轻到重,应力始点较轻,一般情况下刮蹭止点较重,痕迹表面摩擦线条走向与车辆行驶方向相同。

2. 机动车撞、刮自行车和行人痕迹的鉴别　机动车碰撞自行车和行人形成痕迹的部位,一般在车辆正面部位,保险杠、车牌和货车车厢前角。痕迹的特征为条状或片状划痕,痕迹轻重程度、面积、形状因车速、角度不同而各有不同。撞刮自行车、行人多发生在机动车辆的右侧。机动车侧面痕迹的重点部位,是翼子板外侧、后视镜、车门、脚踏板、卡车车厢角和栏板(横梁端头、合页)、轮胎壁、后轮挡泥板、车身侧面、车裙等。这些痕迹不仅能判断人能否避免被轧,而且还可以反映出人与车接触后死亡过程的动态。痕迹多为条状锐痕,有时擦掉车身上的浮土,可看出兼有片状擦痕。车轮碾压自行车和行人时,痕迹多发生在车辆底盘、车裙下沿,为擦划条状痕。机动车底盘上痕迹的重点部位,是转向横竖拉杆和前、后轴的外部、变速器外壳、排气管、车裙下沿和其他突出部位。以便认定人、物进入车下后车辆行走多长距离。车轮擦刮、碾轧人体、物品时,在轮胎壁、胎肩、胎面常出现痕迹附着在轮胎橡胶面上。同时常在胎面、胎壁上留有血迹、衣料、坚硬物垫痕、自行车体表面结构或附着物质。

自行车(包括畜力车)被机动车撞轧和自行车互撞形成的痕迹,常见车把歪斜,前叉后倾,车架、轮框变形,有时在突出部位有锐利的碰击痕。对自行车痕迹的检查,应注意痕迹的部位、形状、面积和距地面的高度,以便分析自行车受外力撞击和被碾压时的演变情况。

3. 衣着损伤的痕迹　在交通事故中,运动物体碰撞人体时,一般情况下首先接触的是人体衣着,因此,衣着痕迹检验在交通事故痕迹鉴定中十分重要。

交通事故衣着损伤主要分为钝器伤和锐器伤。钝器损伤占绝大部分;锐器损伤相对少。钝器损伤

主要有织物局部或个别部位纱线损坏；织物结构受到破坏；织物表面出现异物附着形成的痕迹，包括金属、油漆、污垢、灰尘、污染物、致伤物表面微粒、人体表皮或毛发；所有这些痕迹以不同的组合形式出现。锐器损伤是在锐利的致伤物体作用下形成的，主要有2种表现形式，切割及穿孔。

衣着损坏的形成取决于衣着织物本身，致伤工具及其作用面的特点，受损部位有无硬质衬垫。通常由于拉扯、挤压、撞击或滑移造成。

在检查衣着损坏时，要注意检查致伤物（交通工具、物体等）作用部位的形状、大小和变化情况；注意衣着织物损坏部位的总体变化，而不是只注意明显可见的部位。当撞击物平面较小时，在织物上可能留下肉眼检查就可以看清的压痕，这种痕迹能够全部或部分再现物体的撞击面，从而判定接触物部位。至于撞击部位的确定，只能根据织物原处空间高度和损坏情况总体加以判断。因为有时织物受到撞击不一定都会出现明显的痕迹，而且受创部位也有局限。此外，纺织品（特别是合成纤维织物）的特征是可以拉长，但某些化学纤维混纺织物则易收缩，因而表现出来的破口缩小。棉纺品和丝绸产生损伤常是线、条状的。在有绒毛的织物往往出现刮划痕，平放可以发现绒毛压陷。如果衣料是杂色的，则可以发现纤维移位。在毛织品上通常见纱线错乱。从衣着损坏的纤维、损坏方向及皱褶的规律，可以判断车辆与人体相对运动方向。如外衣接触轮胎部分的皱褶痕迹，一般集中在车辆驶去方向一端。

4. 现场的血痕　现场血迹是常见的一种痕迹，按其遗留状态，可分为血泊、喷溅血迹、黏附血迹。现场路面上的血迹多为血泊或喷溅血迹，肇事车车体上多为喷溅血迹或黏附血迹。寻找和发现血迹要掌握血迹颜色的变化规律。新鲜血迹呈红色或暗红色，以后随时间的延长而逐渐变成暗红色、褐色、棕色。腐败的血迹呈淡绿色。血色的变化还受环境、温度、气候、光照等因素的影响，要根据具体情况来分析。对上述几种颜色的可疑斑痕都需要进行检查鉴定。陈旧血迹检验远比新鲜血液的检验困难和复杂，血痕越陈旧，检验越困难。因此，应及时发现和采取血痕进行检验。现场上的血痕可能因日晒、雨淋而变淡，甚至难于认出，深色衣服上的血痕易被疏忽而遗漏。另一方面有许多有色物质如油漆、颜料、酱料、泥土等，也可以在衣物上染成褐色斑痕，易与血痕混淆。动物血与人血在形态上并无两样，所以现场上肉眼观察一般不易判断。一些类似的痕迹是否血痕，必须进行一系列的检验。

第二节　道路交通事故的人体损伤

道路交通事故的人体损伤是指各种机动车辆与非机动车辆在道路行驶中发生事故，导致人体器官、组织结构完整性的破坏或功能障碍。

交通事故损伤按其性质来说基本上属于钝器损伤。由于机动车辆质量重、速度快（作用力＝质量×速度），所以对人体破坏程度严重。造成损伤形状也是多种多样的。其损伤的特征为：损伤面积大，肢体破坏严重；有时体表虽然伤势不重，但内伤却十分严重，如颅内损伤、内脏破裂出血、组织挫灭、骨折等，严重者可导致死亡。损伤的形态特点为：创缘多不整齐，常伴有大面积的表皮剥脱和严重的皮下出血或血肿，甚至出现皮肉分离的撕脱现象。创腔内常有组织间桥，有时有油垢、衣物碎片、纤维、毛发、漆片、杂草、泥沙和玻璃碎片等异物嵌入；创底高低不平，严重者可有组织挫灭；骨折严重时多呈粉碎性骨折或多发性骨折。在某些情况下，车的玻璃碎片以及车体破坏形成的铁片也能造成刺、切等锐器损伤，受伤人员跌入水中可因溺水死亡，因爆炸或火灾可形成爆炸伤及烧伤。

交通事故损伤大体可分为4类。

1. 按损伤的性质　分为表皮剥落，皮下出血，挫伤，挫裂创，骨折和关节脱位，出血（开放性大出血、闭合性内出血），内脏破裂，肢体离断，组织挫灭。

2. 按损伤的方式　分为碰撞伤，碾压伤，挤压伤，砸压伤，摔伤，刮擦伤，其他损伤如烧伤、爆炸伤。

3. 按损伤与直接外力的关系　分为原发性损伤，继发性损伤。

4. 按损伤的后果　分为致死性损伤，致残性损伤，无功能障碍性损伤。

法医在进行道路交通事故损伤死亡鉴定时应解决：是否为道路交通事故损伤死亡，死亡性质，损伤特点，是生前或死后伤，致命伤及死因，区分驾驶员、乘员或行人，身源，物证的提取及检验。

一、碰撞伤

碰撞伤（impact injury）又称撞击伤，是指车辆在行驶过程中与人体相互碰撞而造成人体的损伤。碰撞伤的形成与相撞时机动车的类型、车速和与人体接触的部位，人体被撞时的姿势以及被撞后的运动状态有关。

（一）碰撞伤的特征

1. 车辆碰撞人体造成损伤的体表特征

（1）车辆的不同部位碰撞人体时，形成的损伤不同，常常能反映出车辆碰撞部位的特征。

行人的头部撞在车的挡风玻璃上，挡风玻璃常呈典型的同心圆状凹陷裂纹。驾驶员与乘员在车内头面部与挡风玻璃相撞，形成挡风玻璃向车外凸状同心圆形裂纹，作用力大时可形成洞状破碎，除造成受伤人的头皮挫伤、颅底骨折、脑挫裂伤外，还可在颜面部形成广泛的小的刺划创，当头颈部穿出玻璃时可形成面颈部皮肤剥切创，有时可将颈部大血管刺破或割断。挡风玻璃框损伤常在前额部，一般呈横行或一侧略带弧形的条状挫裂创，挫裂创的宽度与玻璃框缘一致，有时在挫裂创内可见玻璃碎屑。

车前照灯对人头部的损伤，一般在颜面部被撞部位留下类似车灯边缘轮廓形状的表皮剥脱或挫裂创，可出现皮肤的刺划伤。一般车辆突出的部件，如螺栓和螺帽，可在人体碰撞部位形成皮下出血及印痕，其形状与螺帽相似，皮肤可呈部分挫裂创；铲车的铲齿碰撞人体的前胸和后背部，在皮肤上形成齿状表皮剥脱和皮下出血。

保险杠是机动车前面突出部位，不同车型保险杠距地面高度不同，一般国产小型客车、轿车、吉普车等保险杠距地面高度为 50～60 cm；进口车在 47～57 cm，小型轿车类在急刹车时，车前部可下倾降低 5～10 cm。大型货车，如解放型货车，保险杠距地面高度为 65～80 cm；特种车有的可达 90 cm。保险杠撞击人体时，在人体下肢大腿中下部或腰臀部可见带状表皮剥脱、皮下出血和骨折形成典型的保险杠损伤（bumper injury）。迎面碰撞，损伤发生于下肢的伸侧面；后面碰撞，损伤发生在下肢的屈侧面；侧面碰撞，损伤发生在下肢的外侧面。根据人体下肢损伤部位和高度基本上可推断车型和人体站立或行走姿势。

（2）一般小型轿车和吉普车碰撞成年人，常形成典型的四联伤。

撞击伤：发动机罩的前端撞击人体出现挫伤或骨折。

抛举伤：由于作用力低于人体重心，使人体围绕重心在发动机罩上发生回转运动，上身后倾，身体被抛举腾空，形成躯干部的擦伤和皮下出血。儿童本身由于重心低，冲撞时受力的位置高于重心，只被汽车撞倒而不会发生身体回转。

再撞击伤：人体在发动机器上滑移，使受害者头部与轿车的前挡风玻璃相撞，可发生头颈部损伤。

摔伤：车速快或车速减慢或急刹车时，人体可从车上飞过或从发动机罩上滑下摔到汽车前方地面，造成严重的摔伤。

（3）判定损伤是处于骑自行车时还是步行时形成的，可根据下述各点判断。

测量小腿损伤的高度，根据高度判断，一般从地面算起，即鞋跟至伤处的高度。

损伤是否属于重力腿损伤，一般双侧小腿骨折或一侧小腿出现骨折，说明受害人是处在双脚站立或步行状态下被碰撞的；有时步行或跑步时可发生一侧小腿骨折，而另一侧在踝或足部发生损伤。

车辆的不同部位碰撞人体的损伤特征：例如挡风玻璃框、挡风玻璃、车灯、车上的零件（如螺帽）、车箱、车角和铲齿等与人体的皮肤接触处可形成致伤物的形态特征。

机动车碰撞骑自行车人的人体损伤，除机动车直接碰撞造成的损伤外，人体还要受到自行车的伤

害，例如自行车脚蹬、牙盘、车链、把套及其他部件的损伤。脚蹬、牙盘和车链多损伤小腿内侧下部，表现出表皮剥脱和皮下出血，严重时局部可造成小的挫裂创，典型损伤可见链条印痕。有时损伤不明显，而鞋和裤腿上沾有自行车的车链子油渍。

2. 车辆碰撞人体后的内部撞伤特征

（1）颅骨骨折　在交通事故中，碰撞致颅骨骨折可分为开放性骨折和闭合性骨折，其表现为线状骨折、凹陷性骨折、孔状骨折和粉碎性骨折。碰撞伤造成的颅骨骨折多数为闭合性损伤，有时头皮和面部损伤轻微，而颅骨骨折、颅内出血、脑膜的损伤及脑挫裂伤则较严重。颅底骨折是交通事故碰撞引起的常见的重要损伤，颅底骨折以颅中窝骨折最多，约占颅底骨折的50%。

当额部受力时，易造成眼眶骨折，常为双侧性，其力的传导由中线经筛板、蝶鞍向颅后窝，形成枕骨底部的线状骨折。

顶前部受力时，易造成颞前区骨折，碰撞力大时可造成多发性骨折，骨折线可延伸至颅顶部、颅前窝和颅后窝。

顶中部受力时，易造成伸向颅中窝的线形骨折，可累及蝶骨小翼和蝶鞍。

顶后部受力时，骨折线常沿颞骨岩部，伸向颅中窝的内侧缘和颅后窝。

颞上部受力时，易造成横行于颞骨鳞部及顶后部的线形骨折，常向额方延伸至额骨后部。

颞底部受力时，易造成从颅中窝指向蝶鞍的线状骨折，甚至到对侧颅中窝，如力线稍向后斜，则可累及颞骨岩部。

枕部受力时，骨折线可横过枕骨大孔，有时呈直线状达颅前窝，向上可延伸至颅后部，如力线斜向一侧，则可累及颞骨岩部和颅中窝。

来自脊柱、额部和垂直于顶正中的外力，均可在力线所传导的方向造成颅中窝和颅后窝的骨折。

颅前窝骨折，如果受伤者当时没有立即死亡，一般经数小时后，可以出现眼部迟发性淤血斑，淤血斑因受眶筋膜的限制，局限于眼眶周围，表现出特有的“熊猫眼”。如筛板发生骨折，可出现脑脊液鼻漏。颅中窝骨折时往往有耳、鼻流血伴脑脊液耳漏，如外耳道没有发现流血时，检查时可发现耳鼓膜呈蓝色，也说明有颅中窝骨折和脑脊液耳漏的存在。颅后窝骨折不易被早期发现，多在伤后数小时可见到枕下部和乳突部的皮下淤血，有时张口检查时在咽后壁可发现黏膜下淤血。

（2）脑损伤　是交通事故常见的损伤之一。脑损伤可分为闭合性脑损伤和开放性脑损伤。闭合性脑损伤有原发性脑损伤和继发性脑损伤2种，原发性脑损伤包括脑震荡、脑挫裂伤；继发性脑损伤包括脑水肿、脑出血、脑疝。开放性脑损伤为较严重的脑损伤，由于撞击力较大、头皮裂开、颅骨粉碎性骨折致脑组织严重挫裂并溢出颅外。

脑损伤形成的一般规律是：脑的加速性损伤，多表现在着力点局部发生脑的冲击伤；减速性损伤常沿力轴方向在着力点的对侧形成脑的对冲性损伤。

额部受力时易发生额极和颞极的冲击伤，枕部一般不易引起对冲伤；枕部受力时，易引起额极和颞极的对冲伤，而枕部受力点局部脑组织损伤则较轻，枕部受力的力点愈高，就愈容易发生额极和颞极的对冲伤；枕部偏一侧受力时，则以对侧额极和颞极损伤为主，枕部受力点近中线时，易发生双额极和颞极的对冲伤；颞部侧方受力时，对侧颞叶易发生对冲伤，如果受力很大时，着力侧可产生冲击伤，而对侧颞叶则易形成浅表而广泛的损伤；顶部受力时，如力的方向向前额叶底部和颞极，则易发生损伤；顶部偏一侧受力时，力的方向向后可导致同侧枕叶内侧面较广泛的挫伤。

（3）胸部损伤　单纯的胸部直接碰撞伤在交通事故损伤中较头部、四肢碰撞伤的几率小，常与其他部位损伤合并存在。胸部碰撞伤，在人体受力的局部可见胸壁挫伤、锁骨及肋骨骨折、肺的挫裂伤，肋骨骨折断端可刺破心脏或大血管。

（4）腹部损伤　腹部脏器损伤主要由于机动车前部撞击腹部时造成肝、脾、胃肠道的破裂，肠系膜破裂出血或后腹壁血肿。

交通事故中骨盆损伤，常见耻骨节骨折，髂骶关节骨折或脱位，严重碰撞伤可出现骨盆分离，造成骨盆变形。由于骨盆损伤可导致尿道断裂，子宫及附件的损伤，妇女可导致骨产道变形。

(5)脊椎损伤　直接外力可致椎体的骨折、半脱位，多见的是棘突和横突骨折，同时可造成脊髓震荡、椎间盘脱出和脊神经根的损伤。脊柱损伤常被内脏破裂、大出血及出血性休克掩盖。有时在损伤的后期，甚至脏器损伤治愈后，出现腰痛或功能障碍时，经X射线拍片才发现脊柱的损伤。

(6)肢体损伤　机动车碰撞行人或骑自行车的人，造成人体四肢骨折。车头部和前照灯正面碰撞人体时，易发生股骨头、股骨颈、股骨下骨折，直接受力处容易产生横折。人体与机动车侧面相撞，除局部有擦伤外，多形成接触侧上肢骨折(大型汽车、卡车较多)。车速较慢时，碰撞力不大，可导致关节脱位。

机动车保险杠多伤及下肢。直接外力较大时，可发生胫、腓骨横折，一般情况直接受力处多表现胫骨骨折，而腓骨骨折不一定在外力作用点处，有时在其他部位发生传导性骨折或斜折。小型轿车对人体小腿的碰撞可形成典型的保险杠碰撞伤，距地面50 cm左右高度，表现出胫骨的楔状骨折，楔底为力的作用点，楔尖指示车辆行驶方向。但有时根据人的体位，个别场合也会出现相反情况。这种骨折也称为Messer骨折。重力腿损伤是指机动车前保险杠碰撞行人的直立支撑身体体重的下肢形成的损伤，其特征为重力腿往往出现骨折，而非重力腿多呈现软组织的裂创，如果一侧胫、腓骨或股骨出现骨折，则是作用力直接碰撞重力腿的缘故。

(二)碰撞伤的法医学鉴定

1. 碰撞伤的法医学判定

(1)结合事故现场和车辆损坏特征判定　一般碰撞伤人事故现场，都反映出人体与汽车的碰撞关系，人体倒地位置一般都在车辆行进方向的前方。小型轿车正面碰人时，如果挡风玻璃出现由外向内凹陷的同心圆状放射破裂，大致可断定人头部与挡风玻璃撞击形成。大型客车或无发动机罩的车辆正面碰撞人体头部时，机动车前面可见轻度圆形凹陷变形或碰撞点处出现油漆崩碎现象。

(2)结合现场痕迹判定　在碰撞事故现场中，除对现场勘查和尸体的损伤处检验外，还要检查有关碰撞时的痕迹。头部与车体碰撞时注意发现车体碰撞点油漆破裂处有无受伤人的毛发、血迹、人体组织及擦划痕迹；在受伤人头部毛发和衣领下是否有车体的脱落油漆屑片、油污等；机动车碰撞骑自行车人时，要注意发现自行车与机动车相刮擦、碰撞后遗留的痕迹以及自行车把或其他部件划蹭的车体油漆痕，车体上遗留自行车的电镀痕迹等物证。

(3)结合人体损伤特征判定　车辆部件致人体损伤处都可能遗留有部件印痕，例如挡风玻璃框、发动机罩、螺丝头、特种车辆如铲车铲齿部件等形状，可结合现场予以认定。保险杠撞击导致胫骨发生的Messer骨折、下肢的重力腿损伤和非重力腿损伤结合现场等判断。

2. 碰撞伤与其他工具伤的鉴别　在交通事故的法医鉴定中，特别要注意道路上发现的尸体，是车辆碰撞人体致死的逃逸案件，还是杀人移尸案件。关键在于判定尸体的损伤是机动车事故造成，还是其他工具的打击伤。2种损伤应从致伤物、致伤物的质量和致伤力即冲击或打击速度3个方面考虑。

交通事故损伤致伤物为非常重的机动车辆及其部件，致伤力巨大，常为一次碰撞，致伤部位广泛，损伤特征为：①外轻内重，体表损伤有时不明显；②以擦伤为主，伴有不规则的挫裂伤；③损伤多数不能反映致伤物的形状。钝器打击伤的致伤物常为相对轻的棍棒、锤、砖、石等工具，致伤力较轻，多为重复打击，致伤部位局部，损伤特征为：①表里损伤基本一致；②以挫裂创为主，边缘伴有表皮剥脱；③损伤多数能反应致伤物的特征，如长度、宽度、边缘和角等。

二、碾压伤

碾压伤(run over injury，wheel injury)是人体被机动车轮胎碾压形成的损伤。它是交通事故中对人

体比较严重的损害。尽管车型、载重量、行驶速度、人体被碾压部位和现场条件不同，造成人体的碾压伤各不相同，但是碾压伤还是有其共同特征的。

（一）碾压伤的特征

头面部遭车辆轮胎的碾压后，产生头面部软组织大片状的皮下出血和头皮、耳郭挫裂创。面部扁平变形，眼球脱出或搓碎。颅骨严重粉碎性骨折，颅腔崩溃，骨折片溅出，碎片不能复原。脑组织挫灭，大部分溅出或全部溅出。

重型货车或大客车对人体胸腹部碾压时，除造成皮肤软组织呈轮胎花纹状表皮剥脱和皮下出血外，还会造成胸骨骨折和肋骨多发性骨折，骨折部位比较零乱，骨折的断端参差不齐，常常向内刺破或损伤心脏、肺脏，造成肺、心脏和大血管的破裂出血。甚至脏器脱出体外。

机动车碾压腹部时，常造成肝、脾、胃肠道破裂及骨盆骨折刺破膀胱。由于腹压急剧升高，可造成膈肌破裂，腹腔脏器进入胸腔；腹壁破裂，腹腔脏器脱出体外；会阴部破裂，直肠等盆腔脏器由会阴脱出。当胸、腹联合被纵行碾压时，特别是经下腹至头部碾压，可造成人体内全部脏器脱出。

四肢被车辆碾压时，可发生皮肤撕脱伤（avulsion injury of skin）。当车轮碾压在皮下组织和肌肉丰满部位时，由于皮肤的韧性大于皮下组织，所以皮下组织先损伤断裂，皮下血管损伤形成袋状血肿，此种损伤又称剥皮创。车轮碾压小腿时可造成皮肤呈环状撕脱，仅剩下皮下组织和肌肉，皮肤全层缺失，其宽度与轮面宽度相一致。一般在肢体末端或上肢前肘易发生皮肤不规则撕裂和棱形撕裂。在大型重载车辆、行驶速度较快，轮胎较新，胎面磨损小，胎肩相对锐利时，碾压肢体造成损伤大，特别是经过关节或软组织薄弱处易发生组织挫灭或肢体离断。

皮肤表面可以观察到伸展创（extension wound），即过度牵拉伸张造成的皮肤表层裂创（又称皲裂），多发生在颈部、四肢与躯干相连处，如腹股沟、腋前、腹部、腘窝等处，都发生在身体屈侧。各皲裂断断续续平行排列，其走行方向多与皮肤受牵拉方向垂直。皲裂大者长 1～2 cm，宽约 0.4 cm。皲裂的创底露出真皮而呈白色，死后因干燥，颜色渐渐变深，呈皮革样化。显微镜下见皲裂表皮呈钝性离断，表皮被拉长，厚度变薄，细胞核浓缩、或膨胀或变长、或溶解，或还可观察到细胞间桥的断裂。皲裂处真皮乳头部及乳头下部的结缔组织细微断裂，胶原纤维断裂融合、膨胀，弹力纤维延长，成为不规则的弯曲蹉缩。真皮网状层的胶原纤维及弹力纤维变化不大。

（二）碾压伤的法医学鉴定

1. 碾压现场的特点

（1）现场中一般都停有机动车、破坏物、遗留物，留有受害人尸体、血迹。人体倒卧位置一般都是碾压的终末位置，在现场中可以发现车轮滑移、刹车痕迹和人体滑移（推、碾、拖）的痕迹。

（2）小型汽车多为前轮碾压，大型汽车多为后轮碾压。碾压过人体的车轮和底盘处常沾有血迹、毛发、人体组织及挂有受害人衣服的碎片或布纤维。

（3）被碾压致死受害人的衣服常发生破裂、皱褶，留有轮胎花纹印痕。受害人被车轮碾压后，造成颅、胸、腹腔重要脏器损伤，甚至脱出，有些还压在车轮之下。

2. 碾压伤的判断　从现场和尸体损伤特征判定碾压伤并不困难，主要依据如下 2 点。

（1）根据事故现场的车轮碾压征象　尸体附近有车轮制动的路面拖痕；现场有碾压人体形成的喷溅血迹。尸体衣服被撕裂，衣服上有轮胎胎面花纹印迹，衣服缝合处有撕开痕。

（2）根据人体的碾压损伤特征　皮肤上的轮胎胎面花纹印痕；颈、腋、腹股沟处的伸展创，对称性擦伤；严重粉碎性骨折（头颅骨、肋骨和四肢骨）；脏器的严重破裂，脑及内脏器官脱出体外；肢体较大的撕裂创；肢体离断和手、足部位部分组织挫灭。

3. 刹车和无刹车碾压伤的判定　在交通事故碾压人体致死的现场中，为了判定驾驶员的责任，首先需要判定机动车在碾压人体前有无刹车过程。

刹车碾压是指机动车驾驶员在行驶过程中突然发现前方有行人或骑自行车人而采取紧急制动过程

中将人体碾压致死。其现场特征是地面或道路上有明确的刹车痕迹，人体倒卧在拖痕的终止处。受害人的皮肤与轮胎面接触处一般都留有凹性花纹印痕、皮肤表皮剥脱和皮下出血。人体受碾压后，可造成局部向前推移，人体与道路地面摩擦，皮肤呈片状或条状擦伤。擦伤都发生在骨骼突出部位的皮肤，多在一侧，由中轴向外，开始处擦伤较重，呈片、块状，逐渐变轻、呈条、点状。擦伤方向与推移方向相反，又称作对称性擦伤。

无刹车碾压是指机动车碾压人体时，没有采取紧急制动措施，车轮从人体上碾压或颠滚过去造成人体伤亡。其特征是被害人被碾压致死或受伤的位置无机动车或距机动车位置较远，在尸体附近无刹车痕迹。受害人皮肤上一般留有凹面花纹印迹。有时呈现中空性皮下出血性的轮胎花纹印迹。如果人体的头、胸、腹部被碾压造成破裂时，轮胎胎面上沾的血迹或人体组织，随着车轮的滚动又会沾染在车辆前进方向的路面上。

4. 生前碾压与死后碾压损伤的判定　生前碾压伤与死后碾压伤的判定，根据生活反应存在与否判定，应注意以下方面：①生前碾压伤皮肤裂创明显，皮缘内收，生活反应明显；死后伤生活反应无或不明显；②生前伤多见粉碎性骨折，为一次性外力形成，骨折部位出血严重，特别是颅底骨折，可出现眼眶周围淤血斑，鼻、口、耳出血现象；死后伤可出现骨折，但上述出血现象不明显；③生前伤都是机动车部件或轮胎所致；死后伤有时可发现其他工具所造成的生前伤；④死后碾压尸体可见其余致死原因留下的痕迹，如颈部机械性暴力损伤，这些损伤难以用机动车碾压来解释。

5. 对碾压次数的判定　在碾压现场，对损伤严重的尸体，往往需要判定是一次碾压形成，还是多次碾压形成，这对案件及事故性质和责任的判定非常重要。多次碾压伤指人体受2次以上的碾压损伤。多次碾压伤的特点为：①在现场，可见车辆碾压尸体后在道路上行驶的血性轮胎滚印，可将人脑组织、破碎衣片纤维、骨片等带离或溅出离开尸体的中心位置；②被害人尸体的衣服、皮肤上常留下2种以上的轮胎胎面花纹印迹，可发现不是由一个方向的外力所能形成；③人体损伤严重，肢体离断及组织挫碎明显，难以用轮胎碾压一次解释。

6. 碾压致伤车型的判定　在交通事故中，特别是肇事逃逸案件，对于致伤车型的判定十分重要，不但为侦查逃逸案件、寻找肇事车辆提供方向，而且为交通事故处理及追查肇事责任者提供依据。可对下列几方面的结果进行综合分析，最后对肇事车型提出侦查依据：①在碾压现场中，作现场访问、调查；②现场遗留的车辆轮胎花纹、胎面宽度、车轮的轮距等痕迹；③尸体衣着、被害人物品、尸体外表、创内异物（漆片、机油、泥土、碎玻璃等）特征；④尸体损伤特点如皮肤上的轮胎印痕、保险杠致皮肤损伤和骨折的高度、车辆部件形成的特殊形态的损伤。

三、砸压伤

交通事故砸压伤（temp injury）是指机动车在行驶过程中，因某种原因发生翻车、坠车、碰撞等意外情况，人体被车辆或物体砸压而形成的损伤。砸压伤的损伤程度，因砸压物的质量、高度、速度以及砸压人体的部位不同而不同。

（一）砸压伤的损伤特征

1. 人体皮肤在被砸压后形成皮下出血、不规则的挫裂创、表皮剥脱和组织的挫灭。损伤处皮肤往往出现水疱，水疱易发生在皮下脂肪不发达的部位，尤其是夏天和高温天气皮肤被砸压后更易出现水疱，伤的边缘有红斑，并在周围的健康皮肤出现散在水疱，如有毛细血管破裂，会出现血性水疱。

2. 人体被砸压部位严重变形，脑、心、肺、肝、脾等脏器破碎，多处粉碎性骨折。

3. 胸部或腹部被重物挤压后可发生外伤性窒息。

（二）砸压伤的法医学判定

1. 现场上必须有较大、较重的砸压物体。

2. 人体被压部位出现挫裂创，在被砸压的边缘或受压较轻部位的皮肤可出现皮下水疱。

3. 人体被压部位扁平变形、内脏器官破坏和多发性粉碎性骨折。

四、挤压伤

交通事故挤压伤(crush injury)是指机动车体、部件和装卸物与周围环境在特定情况下对人体挤压所造成的损伤。挤压伤多发生在胸腹部和四肢，损伤和窒息是造成死亡的主要原因。

(一)挤压伤损伤的特征

机动车对人体挤压过程基本分暴力冲撞然后挤压2个阶段。因此，撞击和挤压就形成了挤压伤的基本特点。

1. 可在损伤部位见到表皮剥脱、皮下出血和挫裂创。四肢部位可出现组织挫灭和肢体离断。皮下和肌肉不易形成大的血肿。

2. 常常造成多发性、粉碎性骨折，内脏的挫碎、出血，甚至形成局部扁平变形。

3. 挤压胸腹部时可发生外伤性窒息。挤压伤引起窒息时其窒息征象比较明显。

(二)挤压伤的法医学判定

1. 人体有明显被机动车挤压的现场。

2. 有明显的挤压损伤。

3. 挤压的窒息征象。

4. 对于肢体挤压致死的受害人，在确定死因时应注意鉴别是创伤性或失血性休克，还是挤压综合征致死。

五、摔伤

交通事故所致的摔伤(injuries sustained by falling)是指机动车在行驶过程中，将人员撞倒或抛出，与车头、车顶、地面或地上的物品相撞造成的损伤。损伤的表现及程度取决于汽车传给人体的动能、人体的姿势及路面的情况。

(一)损伤特征

1. 机动车直接碰撞人体造成的摔伤。冲撞力导致人体的摔伤，与一般的摔伤不同，由于冲撞力给人体以加速度，损伤性状在很大程度上决定于地面的性质和身体与地面碰撞的位置。车速快、路面坚硬，人体的损伤较重；一般可造成人体的骨折、脑损伤和内脏破裂。损伤部位多发生在身体的一侧，可出现皮肤的擦伤、骨折和内脏损伤。面部着地时，在面部的突出部出现擦伤和挫伤及Y、T形的挫裂创。颅骨骨折发生在颅前窝，容易发生额叶和颞叶的挫裂伤。仰卧跌倒时，枕部着地，常发生颅后窝和颅中窝颅骨骨折、额极易发生对冲性脑挫伤。头侧面着地时，易出现颞骨骨折，两侧颞叶易发生冲撞伤和对冲伤。

2. 客货混装的大型运输车，有时突然起车或突然刹车翻车，乘车人员常因无准备而被从车上甩下或抛出造成摔伤。机动车坠崖、坠桥和坠涧事故，可造成人员严重的坠落伤。坠落伤的形成与坠落高度和着地的条件、中间有无缓冲物钩挂和碰撞有关。坠落伤多在头部和四肢。坠落伤具有外伤较轻，内部损伤较严重，直接损伤轻间接损伤重，一次力形成广泛损伤，多处骨折和外力方向一致的特点。

(二)摔伤的法医学鉴定

摔伤的判定需结合下列3点。①摔伤现场。注意寻找起落点和车辆留下的位置状态，研究着地点，注意地面性质和血迹分布情况。②一般伤势最重的部位为摔伤接触地面的部位，然后再研究皮肤、内脏及骨折的损伤特征。③体表、骨折和内脏损伤是否一次巨大暴力可以形成。

六、拖拉伤

交通事故的拖拉伤又称拖擦伤(injuries sustained by dragging),指机动车刮带人体在路面上拖擦所造成的损伤。拖拉伤的损伤程度与车速、拖拉距离、地面状态有关。

(一)拖拉伤特征

1. 人体被牵挂处损伤轻,其远端拖地处损伤严重。

2. 在头面部和躯干部,主要是胸部或背部出现大面积片状擦伤,在关节部位呈圆形或椭圆形皮肤缺损。擦伤可致表皮、真皮、皮下和肌层摩擦脱落,严重者骨皮质也出现擦划痕迹。损伤创面常有沥青、沙土附着。

3. 严重的拖拉伤因头部的被动牵拉和颠动可致颅脑损伤。

(二)拖拉伤的法医学判定

拖拉伤的法医学判定比较容易,在判定时应注意以下几个问题:①机动车与人体牵挂物的牵拉部位;②软组织被牵拉摩擦所致损伤的特征及损伤部位的生活反应;③注意有无其他机械性损伤和疾病。

七、其他损害

在道路交通事故中,由于其他事故原因,如坠河、起火、爆炸等造成对人体的伤害,其损伤不是因机动车及其部件碰撞和碾压形成,而是属于与事故有关的间接损害,这类损伤并不少见。

(一)溺死

机动车坠桥、坠河事故时可形成车内人员因丧失自救能力而溺死,受害人损害特点主要表现为人体只出现轻度的碰撞伤,而溺死征象较为明显。

鉴定时应注意以下2个问题:①鉴定是否生前溺死,必要时应提取内脏及水样做硅藻检查。②鉴定交通事故水中尸体损伤性质。交通事故溺死,在入水前、入水过程及入水后,由于车辆与人体的碰撞都可以形成损伤。其他方式致死后,放入车内伪装交通事故,在尸体上也会出现不同时期的损伤。因此应特别注意分析尸体上重要损伤的形成时间和形成损伤的工具与方式。

(二)烧死

道路交通事故中由于车辆碰撞、翻车、电路打火等,导致机动车起火或车上装载的可燃物如汽油、柴油及可燃气体着火,可造成人员的烧伤。由于人体通常被火包围或限定在车内,因此,损伤特点多为烧伤严重、面积大、程度较深,甚至被烧焦。

一般情况下鉴别生前烧伤和死后烧伤并不困难。但要确定其他损伤后在濒死期被烧死,则是一件非常复杂的工作,应仔细检查、全面分析、判断,才能保证结论正确。对于交通事故的烧伤尸体,应结合烧伤的特征、车辆与事故现场进行判定,并注意是否为CO或其他有害气体中毒死亡。

(三)爆炸伤

1. 炸药在车体内发生爆炸　其特征有以下几方面:爆炸中心处(简称炸点)破坏严重,物件损坏严重,局部有烟熏痕迹。距炸点附近人员伤亡多且损伤严重。抛射物为玻璃碎片、小块人体组织碎块,人的手指可抛出30~40 m之外,人体经震开的车门冲出车外。一般情况仅限于车内物品和人员受到严重损害,而车外只受到震动和抛击物碎片的损伤,很少伤及过路行人。爆炸物多为鞭炮、炸药和易爆化学品。

2. 车体外发生爆炸　指货运车的车厢及客运车顶盖上面装放有爆炸物品时引起的爆炸现场。其损伤特点为:车厢板、车顶盖先破坏,一般呈洞状破碎。车体外面烟熏痕迹明显。车外人员伤亡多,有时伤及行人和车辆附近人员。当驾驶室或车顶盖被炸时可伤及车内人员。爆炸力和冲击力较车内爆炸时

轻，抛射物多为装载物，抛射距离较车内爆炸造成的远、范围大。爆炸物为炸药、鞭炮及易燃、易爆的化学物品。

3. 法医学检验和鉴定应注意的问题

（1）区别直接爆炸伤和间接爆炸伤　爆炸力直接作用到人体产生的损伤称直接爆炸伤。有炸碎伤、爆炸烧伤、弹片伤、冲击波伤及抛击伤。爆炸力间接作用到人体上产生的损伤称为间接爆炸伤。主要损伤为抛坠伤、摔伤、压伤。

（2）根据损伤判定爆炸距离　按损伤的轻重，碎片的部位、大小，与炸点之间有无遮挡，基本可以作出推定。

（3）在被炸伤员中判定肇事者　对嫌疑对象应当重点、详细检验，可根据下列几方面判定：①现场有无明显的炸点。无炸点的现场可能是凌空爆炸，如把炸药系在腰带上或绑在前胸，其炸点在人体躯干部，爆炸时可发现头、四肢均离断，各在一方，躯干大部缺失，不能复原。如炸点在车座位下面或车上面的放物架上，则应将人员定位后，按损伤轻重，座位距炸点远近确定炸点与损伤人员的关系，特别要注意炸药的装载物和其他能证明与人身份有关的物品。②有无引爆动作。肇事者点燃炸药，爆炸时手指、手掌或前臂可被炸碎，碎块抛出。③是否接触过炸药。由于在组装过程中，作案人手指甲、手掌、衣兜内可能残留有微量炸药颗粒和粉末。职业性接触炸药人员，其衣服上常有炸药粉末，应注意和爆炸残留物污染相区别。

八、驾驶员及乘员损伤

（一）汽车驾驶员损伤

1. 汽车驾驶员损伤的发生及现场特点

（1）在机动车与机动车相碰撞时，以车高、体重者占优势，常常表现车小者损伤较重；同车型相碰撞时，常常伤及车速慢的驾驶员。

（2）驾驶无车头发动机罩者较有车头发动机罩者受伤机会多。特别是正面碰撞，造成车头及驾驶室变形，破坏严重，往往首先损伤驾驶员和前排乘员。

（3）机动车因坠桥、坠涧及落水的事故，一般是头部先冲下，损伤驾驶员机会较多。有时翻车过程中特别向左侧翻车，车门或关或开，驾驶员有时被惯性抛出或被车门夹挤而受损伤。

（4）机动车起火事故，因车前部距起火多发部位近，驾驶员易被烧伤。

2. 驾驶员损伤特征　驾驶室空间小、部件多。驾驶室前有挡风玻璃和各种驾驶操纵部件，下有油门踏板、制动踏板、离合器踏板，左有车门，后有靠背坐席。右侧的变速器和分动器操纵杆，一旦发生事故，驾驶室内各种部件都能成为造成驾驶员损伤的致伤物。

（1）挡风玻璃及玻璃框碰撞　引起驾驶员发际部位的擦伤、挫伤和裂创以及出现颅前凹、颅中凹骨折、脑额极和颞极的挫裂伤。玻璃碎片的刺划切割可形成刺割伤。

（2）挥鞭样损伤（whiplash injury）　在机动车碰撞时，由于高速行驶的车辆，突然加速或减速时，头部急剧加速或减速所致的损伤。常致颈$_{5\sim6}$或颈$_{1\sim2}$或环枕关节损伤，主要表现为韧带和关节囊的撕裂，关节内出血和软骨撕脱，严重时形成骨折和颈髓损伤。尸体解剖时，需做项部切口，充分暴露项部肌肉、韧带、椎板，用双轨锯锯开椎板，检查颈髓。

（3）驾驶盘损伤（steering wheel injury）　方向盘碰撞胸部皮肤可出现方向盘压痕，导致胸骨和肋骨骨折，胸部变形，肺和心脏大血管损伤。严重者可因胸部挤压而呈现窒息征象。

（4）安全带的损伤　体表与安全带相摩擦造成局部皮肤擦伤，腹部受压造成肠撕裂、穿孔或肠系膜的撕裂，肝、脾、肾、胰等器官与脊柱撞击或受压而损伤，腰椎突然前屈发生第二或第三腰椎横断性骨折。

（5）肢体的损伤　手腕部的损伤，多见尺桡骨骨折。膝部与仪表盘架的碰撞伤，造成膝部的擦伤和

皮肤的挫伤，严重时可出现髌骨、胫骨平台骨折，膝关节韧带撕裂，关节腔出血等损伤。由于碰撞力的传导可发生踝关节脱位或骨折、跟骨骨折、跟腱断裂。

(6)其他损伤　木杆、竹竿、钢管或钢轨等尖端刺入车内造成的驾驶员刺创。

3. 驾驶员损伤与他杀的法医学鉴定

(1)伪装交通事故，往往车辆碰撞、车辆毁坏的现场是真实的，但现场与被害人的损伤不一致、不吻合之处较多。

(2)绝大多数驾驶员的损伤都是由驾驶室内部件造成的。他杀或伪装交通事故，损伤为多次损伤或一个位置多次成伤，部位局限，程度较轻，损伤位置有时在车辆或部件达不到的部位或不吻合之处。例如，扼颈和勒颈造成的损伤难以用车上部件形成的损伤来解释，又如前臂手背的多次抵抗伤，也是交通事故损伤所不能形成的。

(3)怀疑为驾驶员损伤时，其擦伤、骨折、内脏损伤不规则，这些损伤反映致伤物造型不明显。他杀的擦伤、骨折，可反映出致伤物的形态，特别是头面部损伤所反映出的工具造型往往清楚，如斧顶、锤头、棍棒等特征基本可以判定致伤工具。

(4)交通事故损伤多属钝器伤，伴有生活反应，而他杀不一定都是钝器伤，也可为锐器刺、切、砍伤或勒颈等原因致死，伪装的交通事故损伤生活反应不明显。

(5)若将尸体平放在车内制造车辆的碰撞事故，即使加上交通事故车辆对尸体造成的2次损伤，其驾驶员损伤特点也是轻微的，损伤处出血不明显，不能出现挡风玻璃的碰撞伤和方向盘的挤压伤。

(二)摩托车驾驶员损伤

1. 摩托车驾驶员损伤发生的一般规律

(1)摩托车与轿车正面碰撞时，若碰撞速度大，摩托车驾驶员头面部被撞到汽车发动机罩上，继之身体在发动机罩上滑移，碰撞挡风玻璃上然后被抛下，或从轿车顶上翻过再摔下，驾驶员身上有相应的碰撞伤、擦伤、摔伤。

(2)摩托车与汽车侧面相撞，摩托车支承前轮的前叉发生弯曲，前轮可发生严重变形。摩托车发生变形与车速有关，据模拟实验得出：摩托车速度低于25 km/h时，前轮几乎不变形；当碰撞速度在30～40 km/h以上时，摩托车发生明显变形。这样，根据摩托车相撞后的变形程度，可以估算出相撞时的速度。驾驶员可形成碰撞伤，或因摩托车摔倒或从轿车顶上翻过而摔伤。

(3)摩托车与大货车或拖拉机正面相碰撞时，驾驶员易被大型货车或拖拉机后轮碾压头部和胸部形成碾压伤。

(4)摩托车与树木、电线杆等物体碰撞，可发生驾驶员头部和胸部严重碰撞损伤，多数死亡。

(5)坠桥、坠河事故时可使摩托车驾驶员溺死。摩托车碰撞后起火，可将驾驶员烧伤。

2. 摩托车驾驶员损伤特征

(1)车把与下颌、肩部碰撞时可造成下颌骨骨折和锁骨骨折。头部强烈摆动可造成第一颈椎骨折及高位脊髓损伤致死，在尸体检查时应注意这个部位的检查，特别是在颅、胸、腹、盆腔未见明显损伤的情况下。带有挡风罩的二轮摩托车，偶尔可发生切颈损伤。

(2)车把与胸部碰撞，皮肤可形成车把印迹，表现出表皮剥脱和皮下出血，锁骨及肋骨骨折。与腹部碰撞可造成肝、脾、肾和肠系膜破裂出血。

(3)车把造成驾驶员会阴部的损伤。裤子在裤裆和两裤腿根部撕裂绽开，可蹭有油类和油漆片。会阴部、阴茎、阴囊擦伤，甚至撕裂，出血明显。严重者可致耻骨节骨折，还可造成膀胱、尿道或阴道的挫裂伤或裂伤。

(4)油箱上突起的标记印压在大腿内侧，大腿内侧擦伤。摩托车油箱可发现凹凸变形和擦痕，局部油漆脱落。以上这些损伤为特异性损伤。

(5)未戴头盔驾驶员抛出摩托车后造成摔伤，表现为面部大片擦伤、挫裂创，颅骨粉碎性骨折，严重

脑挫裂伤，一般闭合性损伤多，有头盔面罩防护时头皮和颜面不易发生损伤，但可发生颈椎损伤，如骨折、脱位和出血，其颅脑损伤程度比不戴者低，死亡率较低。

(6)摩托车部件造成的特异性损伤和致伤物认定比较稳定。非特异性损伤情况比较复杂，特别是在事故发生前瞬间，车把方向偏离，驾驶员突然跳下或及时侧滑扑倒，其损伤是多种多样的。

3. 摩托车驾驶员损伤与他杀伪装交通事故的法医学鉴别

(1)依据现场。例如，驾驶机动车故意追撞摩托车，制造车祸而杀人时，被害者的损伤均系交通事故伤，很容易被误认为交通事故的逃逸案件。这类案件的现场特征为：一般选用人少车稀的路段，行凶者多采用追尾碰撞和侧面相刮碰的手段，常有左、右绕行和躲避行驶的迹象，碰撞前车速较快，碰撞时和碰撞后无车辆紧急制动的痕迹，事件发生后肇事者迅速逃离现场。在侦查时要仔细研究现场和事故发生过程有无与一般交通事故的矛盾之处或难以解释的疑点，两车接触关系的特点，肇事者与被害者之间有无直接或间接利害关系，肇事者的精神是否正常等。

(2)结合现场特征和摩托车部件对驾驶员造成的特异性损伤，特别注意有无生前伤或死后伤，有无生活反应。

(三)乘员损伤的法医学鉴定

1. 前排乘员损伤的特征　挡风玻璃致头、面、颈部的碰撞与刺伤。前排乘员头面部的碰撞伤要比驾驶员发生几率高，其原因：一是没有方向盘遮挡；二是事故发生时驾驶员本能打方向，躲闪对方来车造成右前角处的碰撞，而前排乘员不知将要发生的事故，未做出躲避预防动作。

(1)挥鞭样损伤　在正面碰撞、急刹车或追尾撞车事故中，可致颈部向前、向后过伸、过屈，造成颈椎、颈髓、大脑及脑干的损伤。

(2)四肢损伤　手掌部突然伸向前方的仪表盘架时，易形成尺桡骨骨折，肘部如果碰撞到仪表盘架，可出现肘部的鹰嘴骨折和肱骨下段骨折。碰撞力可从足跟向上传导至股骨颈部，造成股骨颈的骨折，甚至可引起髋臼骨折。膝部与仪表盘架的碰撞可形成髌骨骨折和膝部挫伤。胫腓骨的骨折多为扭转性骨折。

2. 后排乘员损伤的特征　后排乘员由于位置在车的中部和后部，位于座位之间，所以在事故发生时，所呈现的损伤不同于驾驶员和前排乘员。

(1)头部碰撞伤　前额部直接碰撞，可造成前额的横行挫裂创，颅骨的骨折，大脑额极、颞极的挫裂伤。颏部直接碰撞，下颏部擦伤、下颌骨折以及大脑枕叶和枕极的挫裂伤。由于车辆颠簸和跳动，可致头顶部与车顶盖相撞，造成颅脑损伤。

(2)腿部损伤　两膝碰撞前靠背椅上，可造成髋关节的骨折、脱臼和关节损伤，甚至双侧损伤。另外，可发生股骨颈骨折、骨盆分离。

(3)其余损伤　在翻车、坠车事故时，车内可发生乘员与乘员之间或乘员被物品砸压和挤压造成损伤。车门经常发生挤压乘员手、脚和肢体的现象，可造成局部皮肤擦伤和骨折。高速行驶机动车辆发生侧面相刮撞，造成车体破坏的金属板断面损伤人体时，形成类似砍切样的创伤，一般多损伤侧座位上的乘员。小型车与道路护栏相撞，护栏钢管刺入车体，可将乘员刺伤，严重者可形成人体的穿透伤。

3. 摩托车乘员损伤　摩托车乘员损伤基本上分为碰撞伤及抛掷性摔伤2种类型。碰撞伤可发生在头面部，造成面部损伤、颅骨骨折、脑挫裂伤。有时造成四肢的挫裂伤和骨折。两轮摩托车后座乘员多形成抛掷性碰撞伤或摔伤。基本上无摩托车驾驶员特异性损伤。

4. 乘员致伤前位置的判定　以下各项虽然不一定在死亡人数多的大事故中能准确地判定每个乘员的位置，但基本能确定前、中、后排乘员位置。

(1)从死者损伤特征判定：前排乘员有挡风玻璃所致的损伤，头面部损伤严重、胸部损伤轻；二排乘员的活动空间略比后排乘员为大，所以损伤严重。后排乘员多以分腿伤为主，头部碰撞伤较少。

(2)从血痕、毛发、人体组织遗留的部位和分布情况判定。

(3)从车上部件和装置附着物判定:车上部件,如螺丝帽等钩挂衣物的纤维、部件脱落的油漆和木屑、铁锈沾染到衣服上的痕迹来判定受伤人的位置。

(4)从行李架、携带物、遗留物的存放位置来分析乘员的座位。

第三节 道路交通事故的物证

交通事故形成的过程中,在撞力、拉力的作用下,造成被撞车辆、人或其他物体表面形成立体痕迹或平面痕迹。由于肇事车辆或被撞物体表面形态和黏合、吸附能力,往往会出现肇事车辆表面形态、分离物遗留在被撞物体应力部位。被撞物体表面细微物质,如木屑、表面油漆粉末、铁锈及泥土等黏附在肇事车辆上。交通事故物证和其他案件的物证一样,具有鲜明的法律性和严密的科学性。因此,在现场调查取证中不仅应将物证的名称、数量、形状做详细的检查记录,而且还要对需要检验和保存的物证采取正确、科学的方法提取。物证检验需专业人员进行,按要求出具鉴定书,才能起到证据作用。本文着重介绍物证的发现和提取。

一、道路交通事故物证分类

按照我国规定的《道路交通事故痕迹物证勘验》标准(GA41—91),物证的分类有以下3种。

1. 交通事故痕迹物证 见第一节。

2. 交通事故中的法医物证 法医物证在判定交通事故性质、致伤工具、成伤过程和对肇事逃逸案件的侦查方面能提供线索和起到证据作用。在交通事故中与法医学鉴定有关的物证包括:①人体组织、器官残块和肢体离断碎块;②血痕;③毛发;④酒精和其他有毒物质。

3. 微量物证 微量物证指能证明案件事实的体积小、量微的物质,如交通事故中的纤维、灰尘、油渍、油漆碎片、橡胶颗粒等。微量物证在现场分布较少;不易被当事人毁掉;其检验需由专业人员进行。微量物证对交通事故的认定,判定车辆与人体的碰撞、碾压和刮擦有重要的证据作用。特别是对逃逸案件的侦查,可以指明方向,提供线索,认定车辆。

二、物证的发现和提取

(一)发现和提取物证的地方

1. 碰撞点的确定 碰撞点指机动车与机动车、机动车与固定物碰撞接触的地点,根据现场遗留痕迹确定碰撞点后对寻找事故物证很有帮助。碰撞点附近常见有碰撞时轮胎印痕、急剧转弯痕迹及刹车痕迹,如果是机动车碰撞机动车,往往刹车痕迹中断处就是碰撞点,如果机动车碰撞人体或自行车,可出现刹车痕迹变形的特征;在碰撞点遗留的车辆碰撞后跌落的汽车挡泥板内侧附着的泥土、油漆片、玻璃的散落碎片、油滴、血滴及毛发;尸体、血迹、自行车、摩托车的位置一般不在碰撞点处,可根据其位置及痕迹来推定碰撞点;尸体被碾压的位置是碾压地点,应顺着车辆前进方向的后方确定碰撞点。

2. 从肇事车上寻找物证 在肇事车辆的损坏部位寻找油漆片、衣服纤维、血痕和毛发。在车轮和底盘寻找血痕、人体组织、毛发和衣物钩挂的纤维。

3. 从尸体和衣物上寻找和提取物证 一般尸体损伤部位和衣服的接触部位易发现物证。如轮胎花纹、附着物、油漆片、橡胶末、玻璃碎片、血痕、毛发等。

(二)物证提取原则与方法

1. 确保物证提取的法律证明价值

(1)详细记录现场勘查时间、地点、发现人、见证人,准确记录物证名称、发现部位、数量、形状、大小

和提取方法。

(2)提取前要对发现物证的位置、提取前的形状、与周围物体的关系进行照相或录像,把痕迹物证的大小、形状、花纹等特征配上标尺拍摄清楚,注意拍出的照片不变形。

(3)快速、准确提取,防止其变形、损坏和消失,尽量保持其原始形态,同时采取空白对照样品。

(4)注意采取有责物证和无责物证。有责物证指能证明交通事故发生并有直接责任的物证。无责物证指否定交通肇事行为或证明没有违反交通法规行为的物证。例如,刹车制动痕迹,驾驶员有无饮酒等。

2. 交通事故现场痕迹与物证的提取　应根据痕迹与物证的质量、数量、形态、分布和性质情况确定,原则上分为直接提取和间接提取2种。

直接提取就是直接对物证进行保存。类似破损机件、玻璃、塑料碎片、纤维、血迹、毛发、人体组织、灰尘、油垢、漆片、木屑、粉末等均可实行直接提取。常用火棉胶法、醋酸纤维素膜法和透明胶纸法提取。

间接提取就是采用相应的技术手段,弥补对无法直接提取或一旦对物证直接提取就可能影响物证的真实性和证据力的稳定性的提取方法,如现场摄影、录像、石膏印模等。由于痕迹是由肇事车辆和被撞物体相互作用而形成的,所以必须做到将两者吻合对比后同时提取。如提取血痕的同时,也应提取受害人或可疑肇事者的血样品或组织样本作对比检验。

提取痕迹、物证的目的是保证其真实性和证据力,交通事故现场痕迹、物证的提取,都采取直接和间接的方法相结合进行。例如,对嫌疑车辆的某一部分附着的血迹,必须首先拍照或摄录血迹黏附部位,之后再直接提取送检验证。

(三)提取物证的注意事项

1. 各种车辆肇事后均需暂时扣留,等调查取证全部结束对痕迹、物证无异议之后,才可以返还事主。大小物证一律全部采取。物证体积很大时,应采取有代表性的几个部位,对于难以采取的物证可以考虑做现场技术检验或离开现场移到路边或停车场进行检验。

2. 需要提取当事车上带有痕迹的部位时,应先通知车主或当事人。一般尽可能解体提取,如无法拆卸时,可用刀、锯截断,尽可能少损坏车辆部件。提取金属件上的附着物时不得用金属器具,应用竹或木片等非金属工具进行,以保证检验结果的准确性。

3. 提取车、物、人身上细微物证时,如表面油漆、粉末、毛发、人体组织等应用镊子取下,或用干燥透明胶片或塑料硬膜摩擦产生静电感应后,将检材吸附下来收集好,切忌落入异物。然后将提取物分别投入干净试管或洁净纸袋包装好,并注明该物的名称和从何物上提取,以免提取的检材混淆不清。提取工具只能用一次。提取血痕和人体组织在尚未干透时切忌放入塑料袋中,防止湿热腐败。

4. 提取车辆上的油脂时,应装入玻璃试管内。需送检带有油脂的衣物时,用塑料薄膜袋包装,不得用纸包裹,以免发生质量变化。

5. 伤亡人员的衣服、鞋或其他小物品上的痕迹附着物需要检验时,可将整个物件送检,在取材包装时不得用粉笔在痕迹上作标记,应将痕迹部位分别用洁白纸分别折叠包装,装入透明塑料袋内。

6. 驾驶员饮酒后肇事,要及时应用能够记录酒精含量的"酒精检测仪器"测定。现场留有呕吐物的,应拍照呕吐物的位置后,提取实物化验;还可以通过抽验饮酒人血液,确定受检人血液中乙醇的含量。同时也可以确定事故当事人有无其余药物中毒问题。

7. 对采集的物证要妥善包装,详做记录;不同种类、不同地点采取的物证要分别包装,贴上牢固标签,注明编号、采取部位、采取时间、采取人及见证人,并加封;包装时要防止脱落或带入异物;对于易挥发性物质,如汽油等应装在密封玻璃瓶内。

8. 送检的各种物品,应按技术鉴定部门的规定分别填写送检报告单,并详细介绍发现提取检材的方法及有关情况,注明案情、送检要求和目的。技术部门作出鉴定意见书后,事故处理机关仍需保存物证的原件,供处理事故和进行诉讼活动时查考。

参 考 文 献

1 祝家镇主编. 法医病理学. 第2版. 北京：人民卫生出版社，1999. 163～177

2 李琼瑶，王启明. 交通事故物证勘查和检验. 北京：中国人民公安大学出版社，1995. 1～50

3 翟建安. 道路交通法医学. 北京：警官教育出版社，1995，159～252

4 Ivanov VK. Establishing the location of the driver and passenger with fastened seatbelts at the moment of a traffic accident. Sud－Med－Ekspert，1995，38(1)：27～28

5 Augsburger M，Ribier L. Drugs and alcohol among suspected impaired drivers in Canton de Vaud. Forensic Sci Int，1997，85(2)：95～104

6 Maxeiner H，Ehrlich E，Schyma C. Neck injuries caused by being run over by a motor vehicle. J Forensic Sci，2000，45(1)：31～35

7 Heifer U. Blood alcohol concentration and effect，traffic medicine characteristics and legal traffic relevance of alcohol limit values in road traffic. Blutalkohol，1991，28(3)：121～145

第八章 活体损伤鉴定

■ 吕俊范

第一节 损伤的基本类型及损伤的检查

损伤(trauma)又叫创伤,有损坏、伤害之意。法医临床学所称损伤是指人体受到外力作用使正常组织、器官的结构遭到破坏或功能发生障碍。

导致人体损伤的因素有生物性、化学性和物理性三大类。

1. 生物性损伤 包括病原微生物、寄生虫所致疾病及有毒动植物所致中毒。

2. 化学性损伤 由无机或有机化合物导致人体中毒或灼伤、腐蚀接触部位。

3. 物理性损伤 由物理性因素所致的损伤,包括机械性损伤、放射性损伤、微波损伤、超声波损伤、电流损伤、气压损伤、高温损伤、低温损伤等,在检案中以机械性损伤最为多见。

凡是由于机械力作用于人体所造成的损伤,统称为机械性损伤。机械性损伤又可按致伤物的性状分为固体损伤、气体损伤(如高压气体的压力或爆炸时的冲击波)、液体损伤(如高压水流冲击或跳水等)。法医临床学上所见主要为固体损伤。

一、机械性损伤的基本类型

(一)擦伤(表皮剥脱,abrasion,scratch)

法医临床学意义:①该局部曾被钝物作用过;②可推测力作用的方向;③可推测受伤的时间;④可推测加害的意图;⑤胸腹部体表检见轻微的表皮剥脱(或伴有皮下出血),提示胸腹部可能曾遭拳击脚踢等钝性暴力作用,并可能有内部器官严重损伤。

(二)挫伤(皮下出血,bruise,contusion)

法医临床学意义:①表明该局部曾受暴力作用(眼睑的皮下出血若由别处流来者属例外);②可推测致伤物;③可推测致伤时间;④软组织挫伤(皮下出血)面积达到体表总面积6%时,构成轻伤;达30%时,则构成重伤。其测量一般按本人右手一手掌并指平伸相当于体表面积1%计算。

(三)挫裂创(laceration)

法医临床学意义:①表明是钝器伤,暴力程度较重;②有表皮剥脱的一侧是力作用点;③有时可据以推测致伤物;④头皮挫裂创累计长度达6 cm者,已构成轻伤。

(四)砍创(chop wound)

具有一定重量的锐器刃部,砍击人体形成的创,叫砍创。砍创多呈梭形哆开,哆开程度与皮纹走向有关。创缘、创壁平滑整齐,创角尖锐,创底较深,光滑,干净。头皮锐器创口累计长度达8 cm者,可定为轻伤。

(五)切创(incise wound)

用锐器的刃口,压迫皮肤,并沿刃器长轴牵引、切开组织形成的创,称为切创。切创创口多呈长条状或梭形哆开,创角尖锐,创缘、创壁平滑整齐、创底较浅、干净,创壁间无组织间桥,合拢创口呈线形裂隙。

(六)刺创(stab wound)

末端尖锐的器具,刺入人体内形成的创,称为刺创。刺器可为匕首、刺刀、三棱刀、铁钉、缝针、削尖的竹枝、锥、半月剪刀、螺丝批等。刺创口形状与刺器的横截面相同,故可根据创口形状特征,推测刺器形状。腹部刺创管深度可长于刺器刃口的长度。较长的刺器尚可形成贯通刺创。有时还可同时形成刺切创。

(七)枪弹创(gunshot wound)

枪弹射击人体所致的损伤,称为枪弹创。

1. 贯通枪弹创　弹头射入体内后,穿过组织并穿出人体。贯通枪弹创有射入口及射出口,入口与出口之间有射创管相通。

2. 盲管枪弹创　弹头射入体内后,未再穿出体外。

3. 回旋枪弹创　弹头射入人体后,改变方向。

4. 擦过枪弹创　弹头作切线方向擦过皮肤或形成沟状组织缺损。

5. 反跳枪弹创　因弹头动能减少而打挫于皮肤上。

(八)骨折(fracture)

骨折类型:线状骨折、凹陷性骨折、粉碎性骨折、横断型骨折、纵行骨折、螺旋形骨折、穿孔性骨折、完全性骨折及不完全性骨折。锐器伤、火器伤也可形成相应的骨折。

(九)内脏破裂(visceral laceration)

钝器猛击腹部、胸廓下部,可致腹部内脏破裂;锐器刺腹,肝、胃、肠、输尿管等可能被刺破或刺穿。

二、损伤的反应

(一)损伤的局部反应

1. 肿胀　受到损伤时,因局部充血、水肿和出血而表现为体表的红、肿现象。组织疏松和血管丰富的部位较明显。局部出血明显时,可表现为皮下淤斑(肿)、血肿等。

2. 疼痛　组织损伤后,均有不同程度的疼痛。损伤范围越广,程度越深,疼痛也越剧烈。个体差异和精神因素对疼痛程度也有显著影响。

3. 功能障碍　局部组织受到损伤后,因疼痛和保护性反应而主动限制动作。如骨折或关节损伤则暂时失去活动功能。

损伤轻微者,局部红肿可在数日或1~2周消退,疼痛也逐渐减轻;损伤严重或继发感染,则愈合时间延长,骨折愈合需时更久。

(二)损伤的全身反应

机体的一系列应激反应,尤以代谢及内分泌改变为最突出。改变的程度与损伤的严重程度有关。

损伤轻微，全身反应不明显；损伤越重，全身反应越显著。广泛性多发性组织损伤，可致大失血、脱水、严重缺氧、酸中毒和大量组织细胞坏死；亦可继发感染，发生败血症、脓毒血症等严重并发症。

创伤性休克是严重损伤的全身反应，是因机体遭受强烈袭击（合并急性大出血、剧烈创伤性疼痛等）导致神经、内分泌、循环、代谢等重要功能发生严重障碍所表现的症候群。创伤性休克多因急性失血致有效循环血量减少引起。休克时间持续 10 h 以上，可因肺、肾、心、脑等生命重要器官功能衰竭而死。急性肾功能衰竭可为严重损伤的全身反应，也是创伤性休克的严重并发症之一，可因无尿而发生酸中毒、高血钾症、氮质血症等。

三、损伤的检查

法医活体损伤的检查、记录如下。

1. 部位　按解剖位置标记损伤的部位。

2. 数目　各种损伤的数目应记录清楚，并逐个编号，分别描述。

3. 形状　损伤的形状一般用几何学图案描述，如圆形、方形、三角形、星芒状、弧形、梭形、线状、条状。

4. 大小　以厘米（cm）为计算单位，测量长、宽、深度（或高度，如明显隆起的头皮血肿或皮肤瘢痕疙瘩）。圆形损伤则测其直径，椭圆形损伤测纵径及横径。

5. 方向　表皮剥脱伤，与健康皮肤相连部位为暴力作用的终点，游离缘则是起始点；挫裂创有表皮剥脱伴有皮下出血的一侧为暴力作用点。据此推测暴力作用方向，进而可分析伤者与对方的相互位置关系，故损伤方向推测很重要。

6. 颜色　表皮剥脱及皮下出血的颜色变化，可以反映伤后经过的时间。

7. 创　创口、创角、创缘、创壁、创底及创腔可因不同的致伤物，显示各自具有特征的形态改变。

8. 其他　损伤部位有无特殊异物遗留，如枪伤的烟晕、火药颗粒、弹头；锐器伤的刀刃碎片；砖石伤的泥沙、砖屑；或者其他异物，如布片、衣服纤维、纸片等。

第二节　活体损伤鉴定所涉及的问题

当进行活体损伤鉴定时，通常要考虑以下问题。

一、有无损伤

在伤害案中，当机体受到物理性或化学性物质的作用，在作用的局部应该有损伤发生。如头部被棍棒打击出现头皮血肿或头皮挫裂创；眼眶部被拳击后出现眼睑皮下出血；颜面部黑褐色流柱状烧伤等。鉴定即根据这些损伤所见认定机体的头部、眼部和颜面部受到损伤。

在鉴定实践中会遇到局部损伤不明显或无伤痕，这时要鉴定有无损伤有一定难度。如某甲申诉腹部被某乙用拳击伤。伤后腹痛和镜下血尿，医生诊断为肾挫伤。检查时腹部皮肤无伤痕，是否存在肾挫伤就有 2 种可能：一种是确有肾挫伤，因为腹部皮肤、腹肌有弹性，使得皮肤的损伤不明显，伤后多次尿化验均为血尿，2 周后尿化验正常，肾 B 超检查肾体积增大，回声不均匀，2 周后复查肾体积恢复正常，回声均匀。这种有相关的阳性体征和检查结果符合肾挫伤的诊断。因此，本例虽然体表局部的损伤不明显，肾挫伤的诊断成立；反之，体表无伤痕，第 2 次尿化验正常，肾 B 超检查及复查均无异常。此时，肾挫伤及腹部损伤的诊断均难成立。

在遇到上述情况时一定要进行一次以上的复查，通过动态观察帮助分析判定。

二、判断损伤类型

首先要分清是生物性、化学性损伤，还是物理性损伤。一般在活体检查中，多见的仍是物理性损伤，且又以其中的机械性损伤最常见。

在伤害案件中，被检者的身体损伤可以是单一部位的，也可以是多部位的；损伤可以由同一个人打击形成，也可以是2人以上打击所致。为了明确加害者所应承担的法律责任，办案人要求对损伤的类型进行鉴定。

判定损伤类型是以损伤的形态特征为依据。从理论上讲，不同的致伤物作用于人体形成的损伤是不同的，如挫伤、挫裂创、切创、砍创、刺创、枪弹创以及电流伤和化学烧伤等。法医鉴定人对以上损伤经过检验做出认定并不困难。但是在实际工作中，法医经常见不到原始损伤，而是见到瘢痕。原始损伤往往依靠病历的记载来分析，由于临床医生重点在治疗，对损伤的记载有时会不详细或欠准确，如将挫裂创诊断为砍创，并进行清创缝合。因此，在鉴定时根据瘢痕的形态难以确切判定原始损伤。但对推定损伤的类型，如钝器所致还是锐器所致是能做到的。若能采取到创(伤)周或创内异物，并进行检验，对判定损伤类型有很大的帮助。

三、推定致伤物

致伤物的推定是鉴定工作中经常遇到和要解决的问题。在多数案件中致伤物是清楚的，但是有不少案例，如2人斗殴各执一词又无旁证；或双方均有多人参加斗殴，对打斗过程叙述不一，证人证词又互相矛盾的案件并不少见。因此，致伤物的推定主要是根据损伤的形态特征来进行。根据伤或创的形状、有无表皮剥脱、创缘是否整齐、创口的长度与创腔深度的关系、有无组织间桥、创腔内有无异物等来区别是钝器、锐器或火器损伤。

至于要求判定此损伤是否由此凶器所造成，是困难的，只有在致伤物本身具有某些特征，并在损伤部位遗留特殊的造形，可和可疑的凶器比对，有时可以认定。

在推定致伤物时，以下问题应引起注意。

1. 同一致伤物由于打击面的不同，可以形成不同形状的损伤。如圆柱状棍棒打击头部可形成长椭圆形头皮血肿或条状头皮挫裂创；如此棍棒端打击头部，可形成弧形头皮挫裂创；若打击背腰部、大腿处，则形成条状皮下出血。又如以砖的平面打击头部，可形成星芒状头皮挫裂创；如以边角打击，可形成成角的挫裂创。

此外，如玻璃酒瓶属于钝器，打击时形成钝器伤；当瓶破碎后打击可形成切割创，此时具有锐器的特点。又如菜刀，其刃部可形成切创，也可形成砍创，而菜刀的侧面又可形成钝器伤。

2. 不同的致伤物有时可形成相似的损伤。如砖头、斧背、锤底面打击均可形成具有成角的挫裂创，此时只能反映出致伤物具有边角和面的特点的致伤物所致。

3. 小的锐器可形成大的创，大的锐器也可形成小的创。通常小的锐器，如小水果刀形成较小的切割创或刺切创，但是在斗殴时由于体位的移动，小水果刀可形成长而深的切创或刺切创。以致误认为是较大的刀(如菜刀)和匕首所致；同样，较大的刀具在砍时因体位移动，而形成小的切创。因此，不能单纯以创的长度和大小来判定致伤物的大小。

4. 以瘢痕形状推定致伤物时应注意其局限性。

在鉴定工作中，办案人常常要求通过鉴定人身上的伤痕推定致伤物。不同致伤物常形成不同的损伤，愈合后遗留不同形状的瘢痕，有助于推定致伤物，但是在实践中常常有困难。如头皮有一长5 cm、宽0.3 cm条状瘢痕，瘢痕两侧缘较平整，两端均较锐利，此瘢痕是钝器所致的头皮挫裂创还是锐器所致

的切创，不易区分。进一步肉眼和放大镜观察瘢痕内残留头发生长分布的情况，发现有不同的表现：一种是瘢痕内头发的分布是弥散无序的；另一种头发在瘢痕中线的两侧生长，而中线处无头发。因此，前者符合头皮挫裂创为钝器所致，后者符合锐器所致的切创。

由于损伤在形成瘢痕过程中受多种因素的影响，如组织缺损的程度、感染，尤其是医疗措施等改变其瘢痕的形状。如头部挫裂创，创缘不整，组织挫灭严重，医生在清创缝合时将挫灭坏死的组织切除后缝合，愈合形成了线状瘢痕；或锐器所致的切、砍创因感染而形成不规整瘢痕，以致瘢痕不能反映出原有损伤的特点，而失去推定致伤物的条件。

5. 必要时，可根据可疑致伤物上黏附的血迹、毛发或其他来自受伤者身体的物证检验加以鉴定。

四、推定损伤时间

活体损伤多数在伤后及时到公安机关报案和到医院就诊，因此损伤发生的时间是明确的，对体表的损伤要求鉴定损伤时间的案例并不多。但是有些案例需要对损伤的时间进行判定，以便确定加害者的责任。由于致伤因素、损伤部位、损伤程度、个体素质和有无并发症等因素的影响，故活体损伤对损伤时间很难做出准确的判断，一般是根据临床医学的理论和经验进行推测的。

1. 皮肤擦伤损伤时间的推定　新形成的皮肤擦伤，擦伤表面低于周围皮肤且较湿润，则大约未超过 2 h。如伤面已干燥结痂，在伤后 3～5 h；如伤面已与周围皮肤一样高，在 12～28 h 之内。如痂皮周边开始翘起，在伤后 3～7 d；结痂完全脱落，在伤后 7～12 d。

2. 皮内及皮下出血时间的推定　由于出血处血红蛋白分解而发生颜色的改变。通常在伤后 1～3 d 出血灶内的氧合血红蛋白逐渐变为还原血红蛋白、正铁血红素而呈红色至紫红色；3～6 d 转变为含铁血黄素及胆红素，而呈青、绿色；1 周以后胆红素被氧化为胆绿素呈绿色；12 d 左右呈黄色，后逐渐消退，恢复到正常。

3. 骨折时间的推定　在伤害案件中骨折很常见，通过一般物理检查结合 X 射线拍片，除颅骨线状骨折和肋软骨骨折以外，骨折的诊断并不困难，但是要判定骨折形成的时间是困难的。在鉴定实践中根据骨折愈合过程推定是新鲜骨折，还是陈旧骨折，则是可能的。

新鲜骨折时，局部组织肿胀、疼痛，检查见局部畸形和骨擦感；X 射线照片见骨折线清晰、骨折端锐利。若 X 射线照片见骨折线已模糊、骨折处已有密度较淡的纤维性骨痂影像时，骨折的发生已在 2 周以上；当骨折处已形成骨性骨痂的影像时，骨折的发生已在 3 个月左右，以上 2 类为非新鲜骨折。若 X 射线照片显示骨折处已骨痂愈合并重新塑型者，骨折的发生一般在半年左右，此类已属陈旧性骨折。

新鲜骨折、非新鲜骨折和陈旧性骨折的划分是为了推定骨折形成时间的参考，如某人被打伤后诊断肋骨骨折，根据伤后数小时照片见肋骨骨折线及断端影像清晰，可以认定是此次外伤所致；若在伤后数小时照片见骨折线已模糊和有纤维性骨痂形成的影像，即不能认定为本次外伤所致。法医鉴定时经常遇到伤后半年以上的案例，若要判定骨折发生的时间，一定要求提供伤后原始的 X 射线照片，并和鉴定时照片对比。

此外，脑损伤、眼和耳损伤等均存在损伤时间的推定问题。

五、分析损伤与疾病的关系

随着现代化科学技术的发展，现代医学已由“生物医学模式”，进入“生物－心理－社会医学模式”。而身、心都健康的人是不多的，疾病的发生和已有疾病的发展都可能或多或少地受到外伤的影响，或与外伤发生直接或间接的联系。加上受害者心理因素的参与使临床表现更加复杂，在活体损伤鉴定中，损伤与疾病的关系常常纠缠不清，由于鉴定结论直接关系到实施暴力行为人的法律责任的判定，也关系到

受害人可能得到的经济赔偿。因此，凡是涉及损伤与疾病关系的鉴定结论，常常引起一方甚至双方的不满而反复上诉，增加了复核鉴定和再鉴定。在鉴定中损伤与疾病的因果关系可以归纳为以下4种情况。

1. 损伤与疾病无因果关系　当受害者遭受钝器或锐器打击造成头皮损伤，伤后半小时住院，住院时检查除头皮损伤外，发现肝肿大，肝区压痛，血化验结果肝功能异常。诊断为头部头皮损伤、乙型肝炎。由于乙型肝炎是由乙型肝炎病毒感染所致，从检查的时间上看在头部受打击时受害者已患乙型肝炎，说明头部损伤与肝炎之间无因果关系而是偶合，加害者只应承担头部损伤的责任。

2. 损伤加重了疾病的发展　如某人的背部及四肢被人用棍棒打伤，伤后第二天自觉心悸，呼吸困难，咳嗽，咳痰带血。检查背部四肢软组织挫伤，无肋骨骨折，未发现血胸或血气胸，心尖区有隆隆样舒张期杂音，肺内散在小水泡音；心电图示尖瓣型P波，QPS波轴右偏和心室肥厚征，以上检查结果说明此人背部和四肢软组织挫伤和患风湿性心脏病二尖瓣狭窄。心瓣膜病系被打前业已存在，但在被打后心负担加重出现心功能不全，表明外伤使原有心瓣膜病的病情有了加重，因此应承担加重部分的责任。

3. 损伤对疾病的发生起诱因作用　被害人在斯打时表现正常，相互斯打后出现抽搐，临床诊断为癫痫症。就损伤来说不是癫痫症发病的原因，但对癫痫症的发病起到诱发的作用。又如高度近视的人，眼部被拳击后造成视网膜脱离致盲，由于高度近视的病人存在视网膜脱离的倾向性，有的人因打喷嚏、剧烈的咳嗽或大便用力时即可发生。因此对高度近视发生视网膜脱离，其外力起诱发的作用。作为诱因时不承担刑事责任，但应承担民事责任。

4. 与损伤有关的并发症和后遗症　是指与损伤有直接的因果关系。并发症如开放性骨折合并骨髓炎；股骨干骨折并发脂肪栓塞；血管离断发生失血性休克等。后遗症如脑挫裂伤经治疗后遗留偏瘫或失语；桡神经损伤致垂腕等。对此类并发症和后遗症应负法律责任。

六、评定损伤程度

1. 损伤程度评定的意义　损伤的结果多种多样，可以是体表损伤，也可以是体内损伤；可以是肉体损伤，也可以是精神－心理性损伤。人体损害程度有很大的差异，在活体损伤鉴定工作中，要求对损伤程度进行鉴定，为司法审判提供定罪、量刑和经济赔偿的医学证据。因此，损伤程度的鉴定在鉴定工作中占有十分重要的地位。

2. 损伤程度鉴定的法律依据　鉴定损伤程度是法律实施的需要。涉及法律条款的有《中华人民共和国刑法》第十三条、第九十五条、第二百三十四条、第二百三十五条和《中华人民共和国治安管理处罚条例》第二十二条，其中《刑法》第九十五条所称重伤，是指有下列情形之一的伤害：（一）使人肢体残废或者毁人容貌的；（二）使人丧失听觉、视觉或者其他器官机能的；（三）其他对于人身健康有重大伤害的，具有以上情形之一的伤害均属重伤。根据第九十五条的规定，两部两院联合发布了司发（1990）070号《人体重伤鉴定标准》和法（司）发（1990）6号《人体轻伤鉴定标准（试行）》及GA/T146－1996《人体轻微伤的鉴定》。上述标准将损伤程度分为：重伤、轻伤和轻微伤3个等级。

3. 损伤程度鉴定的医学依据　在损伤程度评定中《人体重伤鉴定标准》和《人体轻伤鉴定标准（试行）》对大多数案例是适用的。由于损伤的成伤机制、损伤的类型和后果的不同，使得部分案例在上述标准中难以找到确切的条款进行评定，给鉴定带来困难。虽然损伤程度的鉴定是为司法实践服务，不能脱离法规来进行，但对鉴定人来说每例鉴定在引用法规前，对其伤情的轻与重应该先用医学的标准来衡量。判定伤情轻、重的原则如下。

重伤：是指有危及生命，或者并发症危及生命的损伤，损伤造成重要器官的破坏或严重的功能障碍。如：大血管断裂、肺破裂致血气胸，胃肠破裂致弥漫性腹膜炎，或脑损伤致偏瘫、频繁癫痫发作等。

轻伤：是指不论在受伤当时或伤后，其程度都不危及生命的损伤；可伴有轻度的功能障碍或不遗留功能障碍。如：四肢长骨骨折、肌腱断裂等。

轻微伤：是指损伤造成组织器官的轻微损坏，经一般处理后能恢复而不遗留功能障碍的。如：软组织小面积挫伤、躯干皮肤小锐器创等。

七、有无功能障碍、残废及其程度问题

致伤因素的种类很多，造成的损害不同，有的原发性损伤严重，伤后遗留严重的功能障碍并致残。如脊柱伴脊髓损伤致截瘫、大小便失禁；有的尽管原发性损伤严重，但伤后恢复良好，只遗留轻度功能障碍，未致残。如颅脑损伤、脑挫裂伤和巨大硬膜外血肿，经血肿清除术后，遗留头痛、记忆力减退和性格急躁，但活动不受限；但有的局部损伤并不严重，却造成严重的功能障碍和致残，如上臂外侧刀砍伤创口长 5 cm，肌腱和桡神经断裂，缝合后遗留垂腕、手功能障碍。又如胸部刺伤造成血气胸出现呼吸困难，经及时行胸腔闭式引流后未遗留功能障碍。上述例子表明原发性损伤的轻或重与功能障碍和致残之间并不呈等同的关系。因此，伤后是否遗留功能障碍或致残，必须经过法医学的检验才能得出确切的结论，为司法机关审理案件提供医学证据。值得注意的是，有关功能障碍或残废的评定，应在伤情稳定并经过适当的康复治疗以后才能进行。

八、判定伤害性质

伤害发生的情节决定伤害性质，如他伤、生活损伤、生产或道路交通损伤、灾害或自伤等。在鉴定中经常遇到伤害双方对伤害性质提出不同意见的案例。如甲提出是被乙打伤，而乙则称是甲自己所伤；又如，丙说被丁踢伤，而丁提出是丙骑摩托车摔倒摔伤的；再如某仓库值班员，称在睡眠中被惊醒发现有人入室盗窃，在厮打中头部被砍伤，钱物被抢劫。以上案例需要通过鉴定来判定损伤的性质，明确应承担的责任。某甲前臂桡尺骨中段横形骨折，从成伤机制分析为直接暴力打击形成；而某丙为右踝外旋型骨折，其他部位无损伤，右踝骨折符合间接外力所致；在值班员的额部见有三处平行排列皮肤裂创，创长各约 3 cm，颅骨无骨折，损伤特点符合自伤。通过检查明确了伤害性质和所应承担的责任。

九、是否诈病（伤）、造作病（伤）

在伤害案例鉴定中，被鉴定人夸大伤情是经常发生的。至于是否诈病（伤）或造作病（伤）则需要法医鉴定人认真检验和识别。否则以假当真将做出错误的鉴定结论，导致错判，造成冤假错案，产生不良影响，损失巨大。诈病表现的形式极其多样，全身各个系统均可见到，对诈病的选择决定于本人的文化素质和掌握的医学知识，以及其目的。常见的有诈瘫、伪装抽搐、失语、诈盲、诈聋以及尿血等。只要鉴定人认真地检查，发现矛盾和疑点后，仔细分析，对大多数诈病是能够识别的。

造作病（伤）虽然和诈病有同样明确的目的，由于确能检查出伤或病，因此更具有欺骗性。其表现形式也与其文化素质、目的和所处的环境有关。随着医学知识的普及，造作病（伤）的手段和方法也在不断提高，如用浓盐水浸泡眼部可致眼睑高度肿胀、眼球结膜高度充血，似“红眼病”；病人用高浓度盐水注入脊髓腔内，造成脊髓局部水肿而致下肢“瘫痪”；为了保外就医吞服铁钉、碎玻璃或强酸、强碱。有的为了造成胃烧伤用胶囊装氢氧化钠吞服造成胃穿孔等。

不论诈病（伤）或造作病（伤）的表现形式多种多样，既然是假的必然和相应的疾病的发展规律不完全一致，而暴露出漏洞和矛盾，识别这些漏洞和矛盾就可能将诈病（伤）、造作病（伤）识别出来。由于诈病（伤）、造作病（伤）在鉴定工作中是经常能遇到和要考虑到的问题，因此是法医学领域中的一个特殊研究内容。

十、判定医疗终结时间

伤害事件发生后，伤者到医院进行治疗，有的受伤者小伤长期住院或以伤未愈多次转院治疗，不仅使案件不能及时得到处理，由于长期治疗增加了医疗费、误工费等经济开支更增加了案件处理的难度。因此，办案人常常要求对医疗终结时间进行鉴定。受伤后由于身体的状况和条件以及不同医疗单位医疗水平的不同，损伤及其并发症治愈的时间长短有所差异，很难做出统一的标准。因此至今全国尚无统一医疗终结时间的规定。有的省市制订了相应的标准，如广东省广州市制订的穗劳鉴字(1988)第002号文件中有关外伤的医疗终结时间的内容规定，如单纯头皮挫裂伤，医疗终结评定依据为创口愈合，医疗终结时间1～4周；头皮下血肿，医疗终结评定依据为创口愈合，血肿吸收，医疗终结时间2～8周；单纯肋骨骨折，医疗终结评定依据为X射线片显示骨折愈合，皮下出血、气肿吸收，医疗终结时间为6～8周；股骨骨折的医疗终结时间为6～12月；又如损伤致视网膜脱离的医疗终结时间为1～12个月等可供参考。因为没有全国统一标准，在没有制订标准的地区可以以临床治愈为判定医疗终结时间的依据，对遗留有后遗症或需再次手术者，则暂不宜作医疗终结时间的判定。医疗终结时间的判定只能以临床治疗经验为基础，既保证受伤者能得到适宜合理的治疗，又避免不必要的医疗浪费。

第三节　损伤程度鉴定标准探讨

法(司)发(1990)6号《人体轻伤鉴定标准(试行)》和司发(1990)070号《人体重伤鉴定标准》颁布执行已有十余载，为准确处理案件提供了科学依据和统一标准。广大法医学工作者在人身伤害的司法鉴定中，运用临床医学理论和技术对人体损伤做出临床诊断，参照《标准》对损伤程度做出司法鉴定结论，取得了可喜的成绩。同时，在应用《标准》评定损伤程度的过程中，由于对部分条文理解、执行不统一以及《标准》本身存在的某些不足，致使在司法鉴定中存在这样或那样的问题。通过多年实践，有必要总结经验，修改完善现行的《标准》，以求得到统一认识和规范，使损伤程度的法医学鉴定结论，能够更加合理，更加准确。

一、损伤程度鉴定的原则

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第三条："鉴定损伤程度，应该以外界因素对人体直接造成的原发性损害及后果为依据，包括损伤当时的伤情、损伤后引起的并发症和后遗症等，全面分析，综合评定。"《人体重伤鉴定标准》第三条："评定损伤程度，必须坚持实事求是的原则，具体伤情，具体分析。损伤程度包括损伤当时原发性病变、与损伤有直接联系的并发症，以及损伤引起的后遗症。鉴定时，应依据人体损伤当时的伤情及其损伤的后果或者结局，全面分析，综合评定。"以上2条标准对损伤程度评定的原则作了明确的规定。对影响人身健康的原发性损伤应侧重于损伤当时的伤情，对影响容貌和组织、器官功能的侧重于损伤后果或结局。如外伤致肝、脾破裂，胃、肠穿孔，心和大血管损伤，四肢长骨骨折等均可在伤后根据原发性损伤进行鉴定；对于肢体的功能障碍、容貌毁损、视觉障碍、听觉障碍等因原发性损伤与后果之间可出现较大的差异，此类损伤的程度应按其后果来进行评定较合理。如眼部钝力性损伤致视网膜震荡，伤后到48 h视力障碍达到高峰时可为光感，但大多数病例在3个月左右可以恢复接近原有视力，如依据视力情况鉴定伤后视力为光感者应属重伤；而恢复后视力接近原有视力时只能评定为轻微伤。又如单纯四肢长骨骨折属轻伤，但合并骨髓炎或骨折愈合不良形成假关节，此时的损伤程度应属重伤，类似的情况并非少见。这表明在鉴定实践中，评定损伤程度的时机选择十分重要，把握不准将会影响评定的结果，鉴定人必须要准确掌握鉴定的原则，同时要清楚了解损伤的发展和转归，才有可能作

出正确的结论。

二、皮肤创口(瘢痕)的损伤程度鉴定

在《人体轻伤鉴定标准(试行)》中的第六条、第十四条、第十七条、第二十一条、第二十八条,规定了皮肤创口的长度,但未有明确规定测量创口长度的统一标准和要求,对创的深度也无表述,在执行上述标准进行损伤程度鉴定时,由于各鉴定人对标准理解的不同,结果将会不一致。

在测量创口长度时,应从伤及真皮深层的两创角间的距离为依据,不能将连接创角的浅表划痕计算在创口的长度内。

一次形成的单个创口跨越2个部位(如头皮和面部)时,应先测量不同部位的创口长度,并分别除以相应条文之规定的长度,再将2个数据相加,如大于1,则可以参照《标准》相应条文之规定鉴定损伤程度。多部位皮肤创口长度累计达到相关部位条款中最大创口长度规定的,可以比照该条款做出鉴定。

损伤部位应拍彩色照片保留,拍照片时要附加比例尺。被鉴定人端坐(卧)位,摄正侧位照片。

面部皮肤创形成当时进行鉴定,参照《人体轻伤鉴定标准(试行)》第十四条规定"面部软组织单个创口长度达3.5厘米(儿童达3厘米),或者创口累计长度达5厘米(儿童达4厘米),或者颌面部穿透创。"所作出的轻伤鉴定结论,如果需要伤情复核鉴定,复核时无证据证明原鉴定结论有误,应维持原鉴定结论。

在《人体轻伤鉴定标准(试行)》中的第十五条"面部损伤后留有明显瘢痕,单条长3厘米或者累计长度达4厘米;单块面积2平方厘米或者累计面积达3平方厘米;影响面容的色素改变6平方厘米。"及在《人体重伤鉴定标准》中的第十六条之"(一)面部损伤留有明显块状瘢痕,单块面积大于4平方厘米,两块面积大于7平方厘米,三块以上总面积大于9平方厘米或者留有明显条状瘢痕,单条长于5厘米,两条累计长度长于8厘米,三条以上累计总长度长于10厘米,致使眼睑、鼻、口唇、面颊等部位容貌毁损或者功能障碍。"和"(二)面部损伤留有片状细小瘢痕、明显色素沉着或者明显色素减退,范围达面部面积百分之三十。"规定了皮肤瘢痕的长度和面积,鉴定时,需测量创口愈合形成瘢痕后其瘢痕的长度或面积。测量时应注意医源性扩创的情况,避免将非必要的医源性扩创计算在创口(瘢痕)之内。愈合后瘢痕的长度并不相等于新鲜创口的长度,往往较原来新鲜创口的长度短。对于新鲜创口长度与新鲜瘢痕长度的关系(瘢痕收缩率),据有关报道,钝器伤瘢痕收缩率15.9%,锐器伤瘢痕收缩率12.4%,在无继发感染等自然愈合情况下,把测量得的瘢痕长度,用瘢痕收缩率换算,可大致推断该瘢痕的新鲜创口长度。

面部创伤形成当时未做鉴定,而在瘢痕形成后做鉴定的,考虑瘢痕形成后的变化,宜在伤后3个月至5个月内,参照《人体轻伤鉴定标准(试行)》第十五条和《人体重伤鉴定标准》第十六条第(一)项之规定进行鉴定,写出鉴定结论。面部瘢痕鉴定为重伤的,必须严格执行《人体重伤鉴定标准》第十六条第(一)项之规定,应同时具备:①数量:块状瘢痕,单块面积大于4 cm^2,2块面积大于7 cm^2,3块总面积大于9 cm^2 或条状瘢痕,单条长于5 cm,2条累计长度长于8 cm,3条以上累计总长度长于10 cm;②性质:明显瘢痕(除扁平瘢痕之外的其他性状瘢痕均称为明显瘢痕);③部位:瘢痕全部或部分位于眼睑、鼻、口唇、面颊部位。

三、肢体贯通创(盲管创)创道的鉴定

检案中常遇到损伤为贯通创或盲管创,但在《人体轻伤鉴定标准(试行)》中并无贯通创或盲管创创道长度的规定。只是在第二十一条第二款中提到:"伤及感觉神经、血管、肌腱影响功能的"鉴定为轻伤。实践中遇到并无明显伤及感觉神经、血管、肌腱的贯通创或盲管创,因无对应的具体条款,评定有困

难。如果可以比照第二十一条第一款关于创口长度之规定，单个创道长度 10 cm 或者创道累计总长度达 15 cm，可鉴定为轻伤。对于一次形成的皮肤创与贯通创（盲管创），其创口长度与创道长度可以相加，若达到 10 cm，建议可以鉴定为轻伤。以便鉴定此类型损伤时评定损伤程度有依据。

四、关于头部损伤后脑震荡的鉴定

《人体轻伤鉴定标准（试行）》第八条规定："头部损伤确证出现短暂的意识障碍和近事遗忘。"这是与头部损伤发生脑震荡有关的鉴定条例。其要求的条件：①头部损伤史；②确实证明头部损伤后出现短暂意识障碍和近事遗忘。本条规定表面看来清楚简单，但实践证明很难准确操作。主要原因是头部损伤容易确证，但对意识障碍和近事遗忘，因为其中有不少主观因素难以排除，难以确实证明其客观存在。故建议原则上不援引《人体轻伤鉴定标准（试行）》第八条作为评定损伤程度的依据。

五、关于眼球部分结构损伤的鉴定

《人体轻伤鉴定标准（试行）》第九条第四项规定："眼球部分结构损伤，影响面容或者功能的。"对"眼球部分结构"应有明确规定。建议眼球部分结构损伤包括外伤性瞳孔散大（较健侧扩大 1 倍以上）、外伤性白内障、外伤性青光眼、晶体脱位（或半脱位）、外伤性玻璃体积血、机化、眼球全层破裂伤、眼底黄斑部损伤（裂孔、变性等），如其对视力、面容有影响，但尚未构成重伤的，应鉴定为轻伤。

六、关于鼻骨骨折的损伤程度鉴定

《人体轻伤鉴定标准（试行）》第十条鼻损伤第（一）项规定："鼻骨粉碎性骨折，或者鼻骨线形骨折伴有明显移位的。"鼻骨粉碎性骨折鉴定为轻伤一般容易把握，但鼻骨线形骨折伴有明显移位的，其明显移位的判断带有一定的主观性，应有明确标准规定。如有鼻部损伤史；临床检查鼻外形改变和塌陷；X 射线片显示明显移位的凹陷性骨折或者横断 CT 平扫显示鼻骨错位明显；骨折必须进行整复，其损伤程度鉴定为轻伤。凡临床检查鼻外形无明显改变和塌陷；X 射线片显示有骨折线，但骨折不需要整复的，其损伤程度鉴定为轻微伤。

鼻骨多发性线形骨折应鉴定为轻伤。

七、关于外伤性鼓膜穿孔的鉴定

《人体轻伤鉴定标准（试行）》第十一条耳损伤第（二）项规定："外伤性鼓膜穿孔。"对鼓膜穿孔检查应详细记录穿孔的形状、大小和部位，穿孔边缘有无血痂或炎症反应，同时常规做高分辨率内窥镜鼓膜拍片。有时穿孔很小，需要内窥镜放大才能看到，复诊时已无法检见，初诊时又没有鼓膜拍片以保留证据，结果成为有争议的案例。

建议遇下列情形之一的，不诊断外伤性鼓膜穿孔，亦不评定损伤程度。

1. 是否穿孔临床诊断意见不一，鉴定时难以取舍的。

2. 临床上曾作过"外伤性鼓膜穿孔"的诊断，并进行非手术治疗，此后进行司法鉴定时未检见穿孔瘢痕的。

3. 临床专科检查确见穿孔，不在紧张部又无外伤性穿孔特征，难以与病理性穿孔（如中耳炎穿孔）相鉴别，又有外伤性鼓膜穿孔依据不足的。

八、关于听力损伤的鉴定

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第十一条耳损伤第(四)项"耳损伤造成一耳听力减退达41分贝,两耳听力减退达30分贝。"和《人体重伤鉴定标准》第十七条"损伤后,一耳语音听力减退在91分贝以上。"及第十八条"损伤后,两耳语音听力减退在60分贝以上。"均对听力损伤的损伤程度鉴定定了标准。鉴定时要取得被鉴定人受伤前准确的客观听觉资料很重要,也很困难。鉴定可参照以下原则(摘自《上海市司法鉴定工作委员会办公室"听力损伤司法鉴定研讨会会议纪要"》)。

(一)损伤鉴定时限问题

根据听力损伤后的发生、发展规律,一般在伤后2个月伤情趋于稳定,伤后3个月临床症状稳定。故损伤后有听力下降的应在伤后1周内进行常规听力测试,伤后3个月经复查听力做出鉴定结论。

(二)听力测试方法的选择及评估

1. 主观测试方法 纯音测听:若在短时间内(1~2 d)在相同条件下重复测试,其结果相关性好(2次误差在10 dB以内),则可作为行为听阈;若2次测试结果相关性不好,提示伪聋或有夸大情况,则应进行客观听力测试。

2. 客观听力测试方法

(1)听性脑干反应(ABR) 主要反映2~4 kHz频率的听敏度,听力单位一律使用听力级(nHL)。其测试出的反应阈不等于行为听阈,两者之间的关系是估计听阈的基础。在各家医院尚未建立自己所用仪器和多数得出的ABR反应阈与行为听阈之间的校正值之前,根据现有资料暂定校正值为15 dB nHL。即反应阈值减去15 dB作为估计的行为听阈。

(2)40 Hz听觉相关电位(40Hz AERP) 依据频率特性可以反映0.5 kHz、1 kHz、2 kHz频率的听敏度,听力单位一律使用听力级(nHL)。其测试出的反应阈不等于行为听阈,在各家医院尚未建立自己所用仪器和参数得出的40 Hz AERP反应阈与行为听阈之间的校正值之前,暂定反应阈值减去15 dB作为估计的行为听阈。但需注意:睡眠状态下测试的反应阈值比清醒状态下测试的反应阈值高10 dB(一般医院常规在睡眠状态下测试)。

(3)耳蜗电图 对蜗性听力减退有诊断意义,其反应阈值高于听阈10 dB。

(4)耳声发射 一般听阈超过40 dB则引不出波形,可应用此检测方法筛选蜗性听力损害程度是否达到轻伤。

(5)对主观检查有听力下降或对检查结果有疑问的,可同时做2项或2项以上的客观听力测试。

3. 听力测试结果检见听力障碍 此时应当尽可能取得被鉴定人受伤前的客观听觉资料。若受伤前业已存在听力减退,则需判定损伤、原发病变与听力障碍之间的因果关系。

九、关于牙齿折断或者脱落的损伤程度鉴定

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第十二条口腔损伤第(二)项"牙齿脱落或者折断2枚以上;"和《人体重伤鉴定标准》第十五条第(二)项"牙齿脱落或者折断共七个以上"。

对牙齿折断或者脱落的数量已有明确规定,鉴定时要注意的是统一认识,牙齿折断包括冠折、根折和冠根折3种类型,一般单纯的冠折可不必考虑,冠折必须达到牙髓腔方能认定为牙齿折断;牙齿脱落包括牙齿全部从牙槽窝脱出和部分从牙槽窝脱出,牙齿松动三度以上经治疗而无法保留,需手术拔除的,应认为是牙齿脱落。确证在外伤后发生牙齿折断或者脱落,有时尚需了解伤前口腔疾病情况,如牙隐裂、牙龈炎、深度龋齿作过根管治疗,牙内吸收等,必要时摄口腔全景片。在口腔原发疾病的病理基础上,轻微外力作用会引致牙齿折断或者脱落,此种情况在评定损伤程度时,还应判断损伤与牙齿折断或

者脱落之间的因果关系及外伤参与程度。

十、关于骨折的损伤程度鉴定

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第二十五条规定:"四肢长骨骨折,髌骨骨折。"因骨折有多种类型,建议该骨折应指完全性骨折,对不完全性骨折如断脱性骨折除外。

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第三十三条"肋骨骨折(一处单纯性肋骨线形骨折除外)。"对肋骨骨折损伤程度鉴定时如单根肋骨一处单纯性线性骨折,其损伤程度鉴定为轻微伤。如单根肋骨一处有明显移位的(如超过1/2)线性骨折,其损伤程度鉴定为轻伤。

《人体重伤鉴定标准》第五十九条"肋骨骨折致使呼吸困难。"肋骨骨折致使呼吸困难的,其损伤程度鉴定为重伤。如果出现胸壁不稳定(浮动胸壁),这表明伤者一侧多根肋骨多处骨折或者双侧多根肋骨骨折,即使在病历中未记载呼吸困难症状和体征,但从骨折情况表明受伤当时损伤可以危及生命或者在损伤过程中能够引起威胁生命的并发症,其损伤程度应鉴定为重伤。

老年人或者其他病理情况而产生骨质疏松,在轻微外力作用下出现肋骨骨折或肋骨骨折并发症,评定损伤程度时应判断损伤与肋骨骨折之间的因果关系及外伤参与程度。

根据胸部损伤史及临床表现疑诊"肋骨骨折",受伤当时胸部X射线摄片未见骨折X射线征象的,应当采取不同角度拍照,或在损伤后2周复查,可提高X射线诊断率。必要时放射性核素骨扫描可辅助诊断。

十一、关于外伤性血尿的鉴定

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第三十六条规定,"外伤性血尿(显微镜检查红细胞>10/高倍视野)持续时间超过二周。"

诊断外伤性血尿时,首先要排除其他引起血尿的原因。如输尿管、膀胱、肾等原发性疾病(如感染、结核、结石、肿瘤、先天性畸形等)和辨识伪装血尿。并有明确的腹部和(或)腰背部等部位的损伤史。

血尿持续时间应超过2周,显微镜检查红细胞>10/高倍视野。但有些医院报告单以(+)、(++)、(+++)表示血尿严重程度,凡以(+)、(++)、(+++)表示血尿程度的,应与经治医院联系,了解这些符号的确切含义。另外有些医院的检验是以比色法测定血红蛋白再折算成相当多少红细胞,鉴定时也应注意。对于违反外伤性血尿发生、发展、演变规律的,需通过B超、CT、X射线造影、放射性核素以及实验室检查排除肾、输尿管、膀胱等原发性疾病(如感染、结核、结石肿瘤、先天性畸形等)和辨识伪装血尿。在泌尿系统原发疾病病理基础上,在轻微外力作用下出现血尿(或血尿加重),评定损伤程度时应判断损伤与血尿之间的因果关系及外伤参与程度。

凡不能确实证明血尿是外伤性的,原则上不援引《人体轻伤鉴定标准(试行)》第三十六条做出轻伤的鉴定结论。

十二、关于颅脑损伤致颅内血肿的鉴定

《人体重伤鉴定标准》第四十四条规定:"颅脑损伤致成硬脑膜外血肿、硬脑膜下血肿或者脑内血肿。"本条文对血肿的量未有明确规定,鉴定时会出现不同结论。建议鉴定时应把握以下原则。

1. 确有原发性颅脑损伤史。

2. 颅脑损伤致颅内出血,血肿量达到一定体积,幕上血肿量大于20 ml,幕下血肿量大于10 ml,形成局限的占位病变。通过CT扫描检查,可以计算出血肿体积,计算方法可依据多田氏公式:血肿体积

(ml) = π/6 × 血肿长度(cm) × 血肿宽度(cm) × 层厚 × 层数。

3. 产生相应的神经系统症状。

凡具备上述条件,其损伤程度鉴定为重伤。如血肿量达到上述标准,但临床上没有相应的神经系统症状,也属重伤。如血肿量少于上述标准,但临床有相应的神经系统症状,也属重伤。如血肿量少于上述标准,临床也没有相应的神经系统症状,建议是否可评定为轻伤[因《人体轻伤鉴定标准(试行)》没有相应的条文]。

十三、关于胸部损伤引起血胸或气胸并发呼吸困难的损伤程度鉴定

《人体重伤鉴定标准》第五十八条规定:"胸部损伤引起血胸或者气胸,并发生呼吸困难。"鉴定时宜掌握以下原则。

1. 胸部损伤引起血胸或气胸发生呼吸困难,其损伤程度鉴定为重伤。

呼吸困难是指由于通气的需要量超过呼吸器官的通气能力所引起。症状:自觉气短、空气不够用、胸闷不适。体征:呼吸频率增快。幅度加深或变浅,重者伴有周期节律异常,鼻翼扇动,紫绀等。实验室检查:动脉血氧分压小于8.0 kPa(60 mmHg),动脉血二氧化碳分压大于6.6 kPa(50 mmHg)。呼吸困难必须同时伴有症状和体征,实验室检查的资料以资参考。

呼吸困难分级参照 GB/T16180 - 1996《职工工伤与职业病致残程度鉴定标准》中有关规定执行。

2. 胸部损伤引起血胸,临床病历中虽未记载有呼吸困难症状和体征,但经 X 射线摄片、CT 扫描或经闭式胸腔引流证实胸腔出血量累计达到 1 500 ml/24 h,或经剖胸手术的,其损伤程度鉴定为重伤。

3. 胸部损伤引起气胸,临床病历中虽未记载有呼吸困难症状和体征,但经 X 射线摄片、CT 扫描证实,一侧肺压缩 50% 以上,伴有纵隔移位(气管移位),并经闭式胸腔引流治疗的(有学者提出肺压缩 70%),其损伤程度鉴定为重伤。

4. 胸部损伤引起血胸或者气胸,临床病历中虽记载有呼吸困难症状和体征,但经 X 射线摄片、CT 扫描证实为少量血胸或者气胸,又排除发生呼吸困难的呼吸系统原发性疾病的病理基础,其损伤程度鉴定为轻伤。

5. 在呼吸系统原发疾病病理基础上(例如肺气肿),在轻微外力作用下出现气胸或者血气胸,并发生呼吸困难,应判断损伤与气胸或者血气胸之间的因果关系,外伤参与程度,评定损伤程度。

十四、关于休克的损伤程度鉴定

《人体轻伤鉴定标准(试行)》第四十九条:"各种损伤出血出现休克前期症状体征的。"和《人体重伤鉴定标准》第八十七条"损伤引起创伤性休克、失血性休克或者感染性休克。"规定了休克的损伤程度鉴定标准,鉴定时要注意掌握以下原则。

1. 具备发生休克的病理基础,创伤性休克是在严重创伤,例如严重颅脑损伤、脊柱脊髓损伤、多发性骨折、严重软组织损伤等情况下发生的;失血性休克是在大血管破裂,肝脾破裂等的外出血或内出血的情况下发生的;感染性休克是创伤、烧伤等继发感染后发生的。

2. 休克的鉴定要综合损伤情况,临床表现(神志、口渴、皮肤黏膜色泽、体温、脉搏、血压、周围循环、尿量)以及实验室检查结果。血压、脉搏是重要指标,但不是惟一指标,不能以一次血压为准。

3. 对基础血压低的,损伤后收缩压虽在 80 mmHg 以下,并无休克表现,不认为是休克。对高血压患者,损伤后当其收缩压下降至 25% 以上,并有早期休克表现的,可以认为有休克存在。

4. 休克代偿期(轻度),其损伤程度鉴定为轻伤。休克失代偿期(中度以上),其损伤程度鉴定为重伤。

参 考 文 献

1 陈康颐. 应用法医学各论. 上海:上海医科大学出版社,1999
2 宋嗣荣. 临床法医学. 第2版. 北京:人民卫生出版社,1999
3 法(司)发[1990]6号. 人体轻伤鉴定标准(试行)
4 司发[1990]070号. 人体重伤鉴定标准
5 吴军. 关于《适用人体轻伤鉴定标准(试行)》和《人体重伤鉴定标准》部分条文的思考. 法医学杂志,2001,17(1):38
6 马保海,董大安,祝志伟. 颅脑损伤程度临床分级标准与法医鉴定标准的比较. 法医学杂志,2001,17(1):42
7 陈佩璋. 人体重伤鉴定标准释义. 北京:中国检察出版社,1991

第九章　杀人碎尸案的法医学鉴定

■ 赖　跃

杀人碎尸案古来就有，新中国成立后一度罕见，但近年来有明显增多趋势。由于杀人犯罪手段的复杂化，碎尸收集和检验的困难，对杀人碎尸案法医学检验鉴定的要求越来越高，这使法医技术人员面临严峻挑战。而有关杀人碎尸案的法医学研究文献极少报道，作者根据个人近年在这方面工作中的体会，结合有关文献报道如下。

第一节　杀人碎尸案的特点和现场勘验

一、杀人碎尸案的特点

尸体可能由于各种不同的原因而被分解成数段或数块，甚至更多的块数。如严重的交通事故、工伤事故、爆炸等重大意外灾害；水中尸体被轮船螺旋桨切削，或被急流冲撞水中礁石；更多见于刑事犯罪案件中罪犯为了毁尸灭迹而将尸体分割或碎尸。为了同以上非刑事犯罪的碎尸相区别，后一种一般又被称为杀人碎尸案或杀人分尸案。此即本章讨论的重点。

杀人碎尸案近年来在全国各地的发案较以往有显著上升。某市 1981 年至 1990 年的 10 年间未发生过一起杀人碎尸案，从 1991 年开始至 1995 年发生 7 起，1996 年至 2000 年 5 年间发生 44 起，为 1991 年至 1995 年 5 年间发案的 6.3 倍。杀人碎尸案迅速明显增多的原因与以往杀人碎尸案发生的原因没有本质的差异，主要是犯罪分子为了毁尸灭迹企图逃脱惩罚，只是由于技术的进步和经济的发展，增多了他们碎尸抛尸的可利用的手段。

由于现代交通工具的进步，短时间内可以从一个地方转移到很远的地方，因此，碎尸的尸块常常不易被发现完全。分尸碎尸工具的现代化使碎尸的程度更重，有的被绞肉机绞碎，甚至强酸浸泡溶化，或者在碎尸后又被火烧、锅煮、油炸；有的在碎尸时采用破像、剥掉脸皮或体表标记、割掉女性乳房或男性外生殖器等以往没有或罕见的碎尸手法，使之不易辨识死者身份等。这些使近年的杀人碎尸案较之以

往的杀人碎尸案侦破工作更困难，而实际工作又要求法医从杀人碎尸案的现场勘查和尸体检验工作中为侦破案件提供更多的线索。

法医参加杀人碎尸案的现场勘查和尸体检验，一般要求解决以下问题：①所发现的尸块是一个人还是几个人的尸块；②对尸块进行个人识别，推断其性别、年龄、身高、身体发育或营养状况、职业、种族及其他能用以进行个人识别的生理或病理学特征；③死者的死因和致死手段；④碎尸工具和碎尸手段；⑤死亡时间和碎尸时间；⑥碎尸现场及杀人现场重建；⑦罪犯特征和犯罪手段分析等。

二、杀人碎尸案现场的法医学勘验

杀人碎尸案现场一般有以下几种类型：①抛尸现场：指碎尸尸块被罪犯抛弃的场所。可能在某个区段范围，也可能涉及几个区段，甚或跨城市、跨省。②碎尸现场：指将尸体分解、包裹的场所。③杀人现场：即罪犯将被害人致死的场所。相当一部分杀人碎尸案的杀人现场和碎尸现场为同一现场，也有两者分开的。

（一）抛尸现场的勘验

抛尸现场多为较隐蔽的场所，如水沟、池塘、草丛、树林、乱石堆中、垃圾箱内、下水道等。也有将尸块抛弃于汽车、火车或轮船上、车站行李寄存处或旅社、宾馆房间的床下或柜内的。一般第一个抛尸现场由群众发现而报案。法医应与其他刑事侦查和刑事技术人员一起采用必要的技术手段（如警犬），在统一指挥下根据首先发现尸块场所的特点，由内向外或由外向内，或沿一定路线和方向，在一定范围内，在有类似环境条件的处所进行搜索，以发现更多的尸块。被发现的尸块越多、越齐全，越有利于以后的碎尸的法医学检验和现场重建分析。

注意尸块的包裹物及附着物的检查，以便进一步分析碎尸和杀人现场。常见的包装物有塑料袋、密码箱、旅行包、编织袋、蛇皮袋、纸箱、塑料布、被单、床单、桌布、窗帘、浴巾、衣物等。通过对这些包裹物种类、颜色、数量、大小，尤其是上面可能有的标记图案、文字和商标品牌等结合调查，常可获取重要线索。如××××年7月香港人刘某被人在深圳某酒店内杀死碎尸，尸块被抛于深圳至广州的快巴内，在该快巴内尸块首先被发现，次日又在韶关火车站发现另一部分尸块，就是从其尸块的包裹物中发现该酒店所用的浴巾，从而查出死者身份，很快抓获与死者同日住进该酒店的另2个香港犯罪嫌疑人而破案。

现场勘验时应做好上述所有包裹物的记录、拍照和提取保存，以便查找和日后比对，也可作为破案后的证据（照片图9-1）。

根据抛尸现场发现的尸块大小和分布范围，结合当地地理环境，有时能分析推断碎尸现场的大致区域。如发现尸块抛弃的附近有异常的交通工具痕迹，则可根据交通工具痕迹的特征，推断用作抛尸的交通工具类型。如1978年4月在湖北某市城郊结合部一农民厕所内发现一颗女孩人头及左上肢、右上臂、右前臂连手、左小腿、左脚共6块尸块，组织人员搜索，很快在发案第2天和第4天在距第一次发现尸块周围400 m范围的另3处厕所内，打捞出其余碎尸块，共13块，以及死者部分衣物。后经侦破，杀人及碎尸现场就在几处抛尸现场附近不到200 m的一栋居民楼内的厨房。

对嫌疑被用作抛尸交通工具的汽车、摩托车、自行车和三轮车等，应仔细在缝隙连接处等不易被罪犯清除干净的地方查找可能留下的死者血迹、毛发、组织碎块或遗留物。如有遗留物，应在记录、拍照后提取，送作血型和DNA检验，与所发现的尸块和可能的受害者进行个人识别。同时对抛尸现场可能的知情人，如清洁工、交通警察等进行调查，进一步收集犯罪嫌疑人的有关信息。如××××年2月北京至丹东的27次特快列车到达终点站丹东后，在一行李架上发现一无人带走的行李卷，其内为一无头男性碎尸。经调查该次列车上全部乘务员、当日值班的车站小件行李寄存员、行李托运员、检票员等508名铁路职工和179名乘客，终于确定碎尸包是从北京上的车。对碎尸包裹物进行认真检查后，在包尸用的一块塑料布上一片血迹下发现几个模糊数字“77、2187、3115”和一个草书“陈”字，据此调查找出重要

犯罪嫌疑人而破案。

以上这一切都与随后的碎尸的法医学检验与鉴定密切相关，法医应亲自参与勘查。

（二）碎尸现场的勘验

碎尸现场一般都在室内。在现代都市里，因为洗手间、厨房有水源和排水设施，便于清洗和处理碎尸时留下的血迹和污物，因此这些地方是最常见的碎尸现场。其他偶有见于饭厅、客厅、卧室或野外的。通过上述抛尸现场的勘查，结合案情调查，当确定犯罪嫌疑人后，就应将其洗手间和厨房列为碎尸现场的勘查重点。虽然大多数犯罪分子已将碎尸现场做过较充分的清洁处理，甚至早已搬走而为他人居住，但在其隐蔽的地方，如地板砖缝、墙角线边、家具背面、排水孔内、排水管里几乎都有可能发现血迹、毛发、碎骨和碎组织块等法医物证。如××××年1月15日在深圳市某区一公共汽车总站的大巴上发现一无头男孩尸体，通过DNA检验认定是某店主失踪的5岁小孩。经过侦查，认为无业人员曾某有作案重大嫌疑。在对曾某租住的住房洗手间进行勘查时，从洗手盆排水管内、洗手间地板排水口处发现少许血迹，经DNA检验是死者血迹，从而确定该嫌疑人曾租住的房屋为杀人碎尸现场，将其抓获后供认不讳。

对碎尸现场的勘查除了注意发现和提取认定碎尸的上述法医物证外，还应注意发现和提取确定犯罪分子到过碎尸现场的证据，如烟头、精斑、唾液、痰、鼻涕、毛发、大小便等；碎尸用的工具，如刀、斧、锯、锤；其他处理尸块的器具，如锅、绞肉机等。

（三）杀人现场的勘验

大多数杀人现场与碎尸现场关系密切，甚或两者为同一现场，即杀人与碎尸在同一场所。但是，相当一部分杀人碎尸案的杀人现场与碎尸现场不同，以卧室、客厅较常见。由于被害人在遇害时通常会有反抗、搏斗和挣扎，常可致现场物品移动或破坏，留下一定的痕迹；被扼、勒颈机械性窒息死者，可在床上、沙发上或其他地方遗留大便、尿液和毛发；被砍、击等机械性损伤致死者，周围物品或墙壁上可能检见喷溅、流淌血迹，或碎组织块。即使犯罪分子事后清洗处理，只要认真搜寻，特别是结合现场刑事科技手段，多仍能发现微量物证供进一步检验。××××年7月4日，在深圳市宝安区某加油站旁发现一个纸箱，内装6块男性尸块。经调查死者王某是东莞市长安镇某工厂主管，4 d前失踪。在勘查死者租住的出租屋时，发现现场家具和物品已全搬光，两居室的房间清洗较为彻底。经过细致的勘查，在洗手间地砖缝、排水管口和拖布上发现血迹，在一卧室墙转角处两面墙上发现大量新鲜刮墙痕迹，并提取到少量血迹。经DNA检验认定洗手间和卧室的血迹均是死者的血迹，进一步确定分尸在洗手间，死者被害是在卧室的床上，与尸体检验时发现死者是被钝器打击头致死的情况相吻合。

第二节　碎尸块的法医学检验

这是杀人碎尸案中法医学检验的重点和核心，一般有以下内容和任务。

一、尸块上附着物的发现、提取

杀人碎尸案中的尸块，由于经过碎尸、抛尸的过程，尸块上一般黏附有能反映现场特点的附着物，此点不同于通常的杀人案中的尸体。所以，对尸块进行检验时，事先不能用水和毛巾等物清洗。检查其上的附着物是尸块法医学检验的第一步。尸块上黏附的泥灰、沙粒、纤维、油污、金属颗粒等，量多时肉眼即能发现，量少时可借助放大镜或立体显微镜观察。提取后送作理化检验，可用作碎尸或藏尸现场情况的分析。有时还能在尸块断端发现碎尸工具的碎片，可留作以后对嫌疑致伤物的认定。

二、尸块的同一性检验

1. 形态学方法　判断从抛尸现场发现的碎尸块是否是同一个人的尸块，必须进行同一性检验。目前仍主要依据形态学的比对，即将碎尸块按正常解剖位置拼接，看皮肤、肌肉、骨质的断端能否吻合（照片图9-2）；有无重叠；碎尸块的大小、皮肤色泽是否相互适应或相称。但是，有时由于不同碎尸块所处的环境条件相差甚远，被发现的时间早晚相隔很长，部分尸块可能因腐败而肿胀、色泽变化，甚至被蝇蛆破坏，都会增加形态学比对的难度。

2. DNA 分析技术　由于尸块的腐败或其他因素使形态学方法无法确定尸块是否来自一个人时，DNA 分析技术可以迅速而准确地解决这一问题。DNA 分析可有 2 种方案，一是分析比对尸块之间 STR 位点的基因型是否一致，再根据其偶合率或同一率进行认定；另一个是分析尸块之间的线粒体 DNA（尤其是 D-环的高变区）序列是否一致。或同时进行上述 2 种方案，需要根据尸块的情况而定。

如形态学比对发现碎尸块明显具有差异，或与 DNA 分析结果不相符，则说明死者不止一人，或者尸块不是同一杀人碎尸案。

三、尸块的个人识别

杀人碎尸案侦破的关键是死者身源的确定，一旦确认死者是谁，随后的侦破工作相对容易得多。根据已侦破案件总结出的经验，杀人碎尸案的犯罪分子绝大多数与死者认识或熟悉，或共同生活过一段时间，一般相互间有一定的利害关系，才导致犯罪分子杀人分尸、毁尸灭迹。

杀人碎尸案中尸块往往不是一次就能完全被发现，而且常常没有随身衣物、证件可以识别。尤其是发案初期，碎尸块常以无名尸体形式出现，因此，杀人碎尸案中尸块的个人识别的思路和方法原则上同无名尸体。

法医根据尸块中内外生殖器官和第二性征，一般能判别死者的性别；根据牙齿磨耗程度和耻骨联合面特征，可大致判断其年龄；根据尸块拼接情况和长骨的长度，也能推算出其身高；根据尸块上可能检见的其他生理或病理学特征，如体态、发型、发色、瘢痕、痣、眉毛、胡须、文身、齿病及义齿、美容情况、残废、指趾特点、内脏病变等个体特征，通过血型、指纹或 DNA 检验与嫌疑人对比，可进行个人识别。但是血型、指纹和 DNA 检验作个人识别，必须要已知其血型，有指纹档案和直系亲属等先决条件。如果尸块上或包裹物中有死者的衣物、首饰、证件、票证等物，会使个人识别更为容易。狡猾的罪犯杀人碎尸后一般均将这些物件处理掉，不容易被发现收集。同时，近年发生的杀人碎尸案，罪犯为了毁坏死者的个人识别特征，常采用更加残忍的其他方法处理尸体，如严重毁损面部并加以油锅油炸（照片图9-3）；焚烧尸块（照片图9-4）；甚至大部和全部将面部皮肤剥去（照片图9-5、照片图9-6）等，增加侦破工作中对死者个人识别的难度。自××××年以来，某市已先后发生这样剥脸皮的杀人碎尸案10起，云南、广西等地也有类似案例发生。更有甚者，将碎尸块用绞肉机绞碎、用化学溶液溶化等处理后排入下水道，则没有能用以进行形态学比对的尸块供检验用。

四、被害者的死因鉴定

通过碎尸尸块的法医学检验来鉴定死因，显然比完整尸体的系统剖验鉴定死因要困难得多。不过，据实际经验总结，杀人碎尸案中死者的死因类型相对简单，以机械性窒息（扼颈、勒颈和封堵口鼻）、机械性损伤（颅脑损伤、颈部及胸腹部刺创）多见，也可见中毒和电击，其他死因少见。机械性窒息死者有时可检见眼结膜出血斑点、面部皮肤出血点、口鼻黏膜出血点、指（趾）端紫绀、内脏浆膜下出血点等一

般窒息征象，以及颈部皮肤、皮下、肌肉、舌骨、甲状软骨等扼勒损伤，口鼻部皮肤、黏膜压迫性损伤，口鼻腔或咽喉部异物堵塞等引起机械性窒息的特有损伤，如在尸块上未检见其他致命伤，可综合判断多数为机械性窒息死。

第二类常见死因为颅脑损伤，以钝器打击头部引起的闭合性颅内出血和脑挫裂伤多见，也可见锐器所致的开放性颅脑损伤。如发现死者头部，一般易于鉴定。当检验无头碎尸时，未能检见上述机械性窒息死的明显征象，又排除了中毒和电击以后，推断以颅脑损伤致死的可能性大。

如能在碎尸块中发现死者胃和胃内容物，应提取送作毒物分析，化验有无本地常见的剧毒药物。尸块上的可疑电流斑，应做病理组织学检查，判断是否电击所形成。

五、分尸工具和手法的分析

常见的分尸工具为各种刀类和锯类，也有用利斧的。通常根据对尸块断端的检验就能做出推断。以刀类切或砍分尸时，在断端皮肤上均能检见典型的切创或砍创，以及由此形成的细尖皮瓣。断端肌肉也较平整，创腔内无血管、神经和肌肉相连接。断端骨质上也易检见切或砍的痕迹。

以锯类分尸者，尸块断端软组织常不平整，皮肤上可见条状、平行的锯痕，断端骨质断面一般可反映出来回拉锯时形成的梯状锯痕，以及骨质被磨损的痕迹，附近肌肉等软组织内也可检出磨碎的骨粉。同时利用2种或2种以上的工具分尸者也不少见，如刀切斧砍、刀切锯断，或者用刀先切后砍等。尸块断端有时也能检见分尸工具被损坏后留下的残片，如刀刃、斧刃、锯片的残片。如能发现，则更具有意义，可与以后得到的嫌疑致伤物进行形态学比对和元素分析比较，用作致伤物的认定与否定。

根据尸块断端的解剖学部位和形态学特征的观察，以及分尸工具的推断，一般就能对分尸手法进行分析。由于罪犯有一定的文化水平或者有生活经验的积累，现在杀人碎尸案的罪犯分尸手法一般都有一些共同点，如多从关节处分离肢解，不留过多的破坏痕迹，这些并不意味着罪犯是懂得医学知识的医务人员、厨师或屠宰业人员。如是上述人员作案，分尸手法则会带有更明显的技术性。当然，如发现是自非关节部位强行破坏肢解尸体时，则说明罪犯是缺乏医学常识和生活经验者。××××年12月27日，在广州市某单位弃用的值班室内发现2包女性尸块。经检验，尸块89块，脸皮被剥掉，并被切成14小块，肩、肘、腕、髋、膝、踝等关节处均从关节面肢解，但脊柱为锯子锯断，胸腹腔内脏均取出，全身皮肤也剥掉。根据尸检情况认为罪犯的分尸手法熟练，能反映出犯罪分子的职业特点，如屠夫、厨师、医生等。破案后核实，犯罪分子为两兄弟，其弟2年前在深圳开过餐馆，当过厨师。

分尸后再用火烧尸块企图进一步破坏尸块或毁灭尸块者，多以矿物油（如汽油）焚烧。由于所用矿物油数量有限，以及矿物油燃烧迅速、烟雾较多及持续时间短的特点，被烧的尸块常表现为尸块皮肤表层严重烧毁或烧焦，但真皮及以下常无烧伤形成，皮肤表面烟熏痕迹特别明显，呈黄褐色或黑褐色，毛发常仅尖端被烧等，不同于其他明火焚烧时形成的烧伤特点。如能提取皮肤或残存衣物送作理化检验，可鉴定其矿物油的种类。

现场勘查时，血迹、碎组织块等的分布也有助于分尸手法及工具的分析。

六、被害人死亡及分尸时间的推断

1. 死亡时间　指被害人被杀死的时间或距尸检时的死后经过时间。在杀人碎尸案中，与通常的死亡时间推断比较难度更大，因为检验的对象是碎尸块，不是完整的尸体，而且不同的尸块所处的环境条件不一致。尸块一般处于缺血状态，腐败也较完整尸体为慢，常用的尸温测量、尸体现象分析及死后化学分析方法都不适用于尸块的检验。

根据尸块的腐败程度、尸块上昆虫发育情况，结合尸块所处环境条件，推断死亡时间相对来说切实

可行。根据胃内容物性状，如能得知其最后一次进餐时间，也可以推断死亡时间，但与实际情况误差较大。根据尸块酶组织化学、蛋白质分解及核酸分子的变化来推断死亡时间的研究尚未见有文献报道。但是可以预料，同一尸体的不同尸块处于不同的环境下，用上述指标来推断死后时间，结果会有很大差异。

2. 分尸时间　指被害人死后再被分尸的时间。虽然大多数杀人碎尸案是在被害人被杀死后不久即行分尸的，但也有的因为当时的客观条件或情况变化而未即行分尸，将死者尸体藏匿一段时间后再行分尸，此时死亡与分尸间隔了或长或短的一段时间。推断分尸时间对分析作案过程和罪犯作案条件有一定意义。

杀人致死后很快分尸时，尸体的组织还有较强的生活反应。虽然分尸的损伤是死后伤，但皮肤、肌肉、血管等组织还未死亡，可表现为一定程度的生活反应能力，这就是所谓的超生反应。分尸局部断端的皮肤、肌肉、血管收缩较明显，可有相当程度的出血征象。如果死后较长时间才被分尸，则有的尸块可检见尸斑、死后皮肤压痕等征象。

第三节　罪犯个人特征的分析

分析罪犯个人特征包括对杀人分尸案罪犯的性别、身体状况、职业、经济条件、文化水平、居住环境、生活习惯以及人数等的分析刻画。对罪犯个人特征的分析基础是前述杀人碎尸案现场勘验、碎尸块检验的结果，以及相关法医物证、毒物分析报告，再结合案情调查和法医本人实践经验的总结，综合进行分析。其中可变因素很多，超出一般共性的例外也不少见。因此分析时除尽量多掌握有关现场、案情和尸检的信息外，特别要注意分析的客观依据，避免主观臆断。

杀人碎尸案的罪犯多为男性，尤其是青中年男性。要注意罪犯年龄有年轻化的趋势，13～15 岁的少年罪犯已有报道。女性杀人碎尸也不罕见，本文 51 例杀人碎尸案中已破案证实为女性作案的有 5 例，占 9.8%。共有 7 人，年龄 18～38 岁。三陪女 2 人，职员 2 人，打工妹 2 人，个体经商者 1 人。杀人动机 4 例为情杀，1 例为图财。杀人手段 2 例为扼死，1 例为勒死，1 例先投安眠药后扼死，1 例尚不明。抛尸现场多在罪犯住处附近，1 例抛在火车上。较为特殊或特征性的是其肢解尸体的手法的技术性较男性罪犯差，表现为被肢解的部位破坏较明显，损伤次数多，以刀砍为最常见肢解分尸手法，5 例均有刀砍损伤，3 例还兼用锯子锯。分尸后再砍伤头面部、煮头、油炸、火烧、剥掉全身皮肤等都有所见。有 1 例剥掉死者全身皮肤，但外生殖器官仍完整保留，是否有特定的意义，值得考虑。被害人中 4 人为男性，1 人为女性。

抛尸时使用的交通工具种类、尸块包裹物的类型以及被害人的身份等资料，可用以协助分析罪犯的职业、经济状况和文化水平。但杀人碎尸案的罪犯一般经济状况及文化水平不会很高，身体状况较好，有相当的体力杀人、碎尸又抛尸，除非是几个人合伙作案。杀人、碎尸又抛尸的杀人手段一般都反映出罪犯胆大、粗野、凶残的个性特点，但也可能有例外。

杀人动机中以情杀最多见，罪犯与被害人之间常有非正当的性爱关系或矛盾。其次是图财害命。其他动机少见。一般通过对尸块损伤分析，死者贵重物品如黄金首饰、现金等丢失与否以及死者身份等情况综合判断，可以分析杀人动机。

第四节　杀人碎尸案的并案分析

当杀人碎尸案尚未侦破，罪犯尚逍遥法外之时，有的罪犯或一伙罪犯可能在同一城市或地区的不同地段，在不同时间内连续作案。将具有相同作案手段和特点的案件并连一起侦查，可以将不同案件中反映的罪犯信息集中起来，便于扩大侦查线索和方向。如能侦破一个案件，可以连带破获几个案件，这种

侦破方式习惯上叫并案侦查。杀人碎尸案的并案侦查更具有实际意义。几个不同的案件能否并案，或者说并案能否成功，前提在于并案分析是否正确。某市××××年以来先后发生10例剥脸皮碎尸案，其中5例被并案侦查，现将该5例碎尸案并案分析的几个要点或根据简述如下。

一、被害者特征的一致性

该5例被害人均是22～25岁之间的年轻女性，身高1.55～1.65 m之间，均有不同程度的染发、发型时髦、文眉、修眉、文眼线、双耳环孔、修指甲、染指(趾)甲、身材匀称、苗条等特点，反映出被害人的职业很可能是娱乐色情业的三陪女、按摩女、发廊妹等。而其他5例被害者1男4女，4个女性中打工妹2人、职员1人、个体业等1人，与之显著不同。被害人个体特征及职业特征的一致性，可从另一方面反映出罪犯个体特征如经济状况、行为爱好等的一致性。

二、被害者死因和致死方式的一致性

该5例被害人尸块的法医学检验，均鉴定为是被他人扼颈致死。其他5例中1例扼死、2例勒死、1例被刺死、1例死于颅脑钝器损伤。

三、分尸部位和分尸方式的一致性

1. 该5例剥脸皮的范围和完整性一致　上至发际，下至下颌缘或颈部，左、右侧至耳前或割掉耳朵至耳后。均将尸块从大关节处(颈椎、腰椎、肩、肘、腕、髋、膝、踝关节)肢解，离断头颅，从腰$_{2\sim3}$椎将躯干分离成2段，尸块均在11～13块之间，除剥掉脸皮和肢体的标记外，没有明显损毁或特殊处理尸块的情况。

其他5例剥脸皮的范围方法不一致，有的将脸皮和头皮全部剥去；有的仅剥去左右面部一小块皮肤；有的只剥去下半部面部皮肤；有的剥去脸皮后将脸皮碎成14块。分尸的部位、方法和尸块的处理也不相同，其他多用刀砍、锯子锯；有的只剥掉脸皮而颅与躯干四肢连在一起；有的将尸体肢解为数十块；有的将尸体皮肤全部剥掉，剔除软组织，剩下骨骼。还有用绞肉机绞尸块、水煮头颅、火烧尸块等毁尸手段。

2. 肢解手法和熟练程度的一致性　5例并案碎尸块均是从关节面肢解，甚至在很难肢解的颈椎、腰椎部位，凶手也是从关节面或椎间盘处离断。剥面部皮肤较为干净、彻底，肢解手法技术性强，较为熟练。其他5例肢解手法技术性差，多是乱砍、锯断，肢解部位零乱。

3. 对头颅与脸皮处理的一致性　并案侦查的碎尸案中有4例找到头颅，但一直未发现被剥掉的脸皮，有1例找到脸皮而没有发现头颅。其他5例碎尸案中有1例整个尸块没有找到，仅在杀人碎尸现场发现了死者毛发、血迹、肉末、骨碎片等，有1例剥去的头皮与头颅抛在一处，但脸皮被切碎成14块。其余几例是剥脸皮不完全或虽剥去脸皮但头颅与躯干连在一起。

四、抛尸现场和抛尸方法的一致性

1. 公开与隐蔽相结合　并案侦查的碎尸案抛尸均是公开与隐蔽相结合，公开的地方均是人群多、很易被发现的公众场所，如市区的大路边、人行道和草坪上、公园门口、出租楼房内的楼梯上、居民住宅旁等。犯罪分子故意想让人们发现部分尸块，具有与公安机关挑战的心理。隐蔽处有海里、隧道内，并且5例案件的尸块均没有找齐全。其他5例抛尸地点均较隐蔽。

2. 远距离、多处抛尸　并案侦查的碎尸案均为远距离、跨行政区域抛尸，抛尸均是在多处或3处以上。而其他5例碎尸案均在本区抛尸，有4例将尸块分几包抛在一处，有1例抛尸2处。

3. 利用交通工具抛尸　由于是远距离、跨区甚至跨市抛尸，且抛尸地点多在公路边，所以抛尸时均利用了交通工具。其他5例碎尸案有3例利用了交通工具抛尸，有2例没有用交通工具。

4. 抛尸时间的一致性　并案侦查的5例碎尸案罪犯杀人后均是及时分尸，并在24 h内多处抛尸。并且这些尸块都是在夜间抛尸的。

参 考 文 献

1　陈世贤. 法医学手册. 上海：上海科学技术出版社，1998. 161

2　祝家镇. 法医病理学. 第2版. 北京：人民卫生出版社，1999. 10～11

3　Hyma B, *et al*. Evaluation and identification of dismembered human remains. Am J Foren Med and Pathol, 1991, 12(4): 291～299

4　Rajs J, *et al*. Criminal matilation of the human body in Swedan. Journal of Forensic Sciences, 1998, 43(3): 563～578

5　祝家镇. 从××碎尸案看机械性损伤的法医学鉴定. 新医学，1980(10): 554～555

第十章 颅像重合术

陆惠玲 余彦耿

第一节 概述

颅像重合技术(superimposing, superposition, superprojection technique)是用未知身源的颅骨和失踪者的照片,在一个特殊的装置上使二者的影像按相同的偏转角度、仰俯角度和焦距互相重合,然后根据重合时人像软组织与头颅骨之间能否达到解剖关系上的一致,来确定颅骨与照片是否系同一个人,从而确定颅骨身源的一种技术。它是法医与刑事图像技术的交叉科学,隶属于法医人类学。颅像重合主要适用于失去辨认条件的无名尸体,如高度腐败尸体、干尸、鞣尸、白骨化尸体和碎尸等的个人识别,判断死者是谁,为许多杀人案件的侦查、起诉、审判提供可靠的证据。另外,颅像重合在火灾、空难、爆炸等重大事故的个人识别中也有很高的应用价值。实践证明,在许多碎尸案、白骨案中,迅速查清被害者的真实身份是破案的关键。

一、颅像重合术发展简史

19世纪80年代,为了检验历史名人的肖像是否真实而发展了颅像重合技术。1935年,英国法医学家J. Glaister和J. C. Brach首次用颅像重合法成功地鉴定了Ruxton夫人和她的女佣Rogerson的颅骨,使警方很快侦破了Ruxton医生谋害其妻子与女佣的杀人碎尸案。以后各国学者对颅像重合技术进行了不同程度的研究和应用,使该技术逐渐完善。1988年8月,在联邦德国基尔大学法医研究所,召开了由联邦德国、原苏联、日本、美国、澳大利亚、印度、中国等17个国家的40多位法医学家参加的"第一届国际颅面鉴定学术交流会",进一步发展了颅像重合术。

1981年,我国学者才东升、兰玉文和贾静涛首次提出了一套应用颜面解剖投影的平面数据指标对重合像进行比较测量的方法,使颅像重合术更趋科学。1985年,兰玉文、才东升和陶成又根据二重投影的原理,在定向反射颅像重合摄影装置的基础上,研制出了"TLGA-1颅骨身源鉴定仪"。该仪器首次应用微型电子计算机,对颅像重合检验标志点、指标数据进行分析处理,得出鉴定结论,从而把应用颅像

重合术进行颅骨身源鉴定的科学性和可信性推到一个新的水平。1987 年，兰玉文对“TLGA－1 颅骨身源鉴定仪”的光路控制系统及数据处理方式进行了重要改进，研制出“TLGA－2 颅骨身源鉴定仪”，进一步提高了颅骨身源鉴定仪的先进性。1989 年，王英林、赵忠华等人研制成功了“TLGA－213 颅像重合鉴定处理系统”，采用电子计算机和视频图像重合技术，将被检颅骨与失踪者的面部图像重叠在同一台监视器的屏幕上，以中国人颅像重合术的 4 项 52 个指标为鉴定标准，通过对屏幕图像检测，进行同一认定。这是一套用系统软件处理的多功能计算机数字图像重合鉴定系统，是通过数字测量进行定量分析的鉴定方法，避免或减少重合技术中的主观因素，提高鉴定的客观性和可靠性。

二、颅像重合术的原理

人体骨骼中头颅骨最能显示个人特征，颅骨是形成颜面的母体，颜面和颅骨之间有着极其相关的个人同一性和排异性。每个人的颅骨形态的个体特定性决定了颜面形态的个体特定性，人像照片是这个特定性的客观反映。因此，同一个人的颅骨与其失踪前的人像照片的影像，在相同的成像条件（偏转角度、仰俯角度、焦距）下，通过特殊装置按正确的解剖位置重合，就会显现出颜面的形态特征和颅骨的形态特征的一致性。如果不是出自同一人的颅骨和人像照片，即使还原了人像照片的成像条件，也不可能使颜面部各解剖学标志与颅骨相对应的轮廓和标志点全部重合。这就是颅像重合的基本原理。

三、颅像重合术的注意事项

1. 所选用的照片应用失踪前 10 年内的，且应用影像实（焦点对得好）、轮廓完整、拍摄条件好的照片。因为影像虚的照片会造成取点不准，影响重合检验。

2. 颅像重合不但受年龄、性别的影响，而且受地区、民族的限制。因此认定标准不可能完全通用，使用时应予注意。

3. 由于人的颜面特征存在相似性，因此，在颅像重合审定时应尽量避免相似性的干扰。

4. 检验者应科学、客观地对待每一次重合，千万不能受案情干扰，先入为主。否则极易造成检定错误。

第二节　颅像重合术的步骤与方法

颅像重合术由两部分组成：首先将人像和颅骨像重合，制成重合像；然后再依据颜面和颅骨的特征进行个人识别，即进行重合结果的认定。本节主要介绍用 TLGA－213 颅像重合鉴定处理系统制成颅骨与照片重合像的步骤与方法。

制作重合像包括：人像审定、颅骨准备和重合投影 3 个基本步骤。

一、人像审定

用颅像重合法鉴定颅骨身源，首先要进行人像审定，即了解并还原出人像照片的成像条件，其中最主要的是拍摄角度。失踪人照片是用以判定无名颅骨身源的惟一根据，对送检照片上的人像颜面部标志点的审定及标志线的选定准确与否，直接影响到重合检验的可靠性，因此要求对人像颜面标志点的取点、作线力求准确无误。

人像拍摄角度的确定，是颅像重合的关键。鉴定时，必须保证人像和颅骨像拍摄角度一致。1981 年，兰玉文、才东升等提出用人像水平偏转指数计算其左右偏转角度，用仰俯指数计算其上下仰俯角度，以了解人像的拍摄角度。该法的原理是在透视成像条件下线段长短的比值和角度大小存在着回归关

系，故可以用偏转指数和仰俯指数分别推算偏转角度和仰俯角度。这个成果的主要优点是可不必考虑失踪人照片幅面的大小，也不必事先将照片放大到人头原大。只要按规定的程序，计算出人像的偏转角度和仰俯角度，调整定位颅骨像的摄影角度，就能与失踪人照片进行重合投影。

（一）标志点和标志线

1. 标志点　用于颅像重合的基本标志点共有 34 个，其中正中线上有 12 个，两侧有 11 对，见表 10－1。

表 10－1　用于颅像重合的基本标志点

正中线（个）		侧面（对）	
名称	代号	名称	代号
颅顶点	v	耳屏点	t
发缘点	tr	颅侧点	cu
眉间点	g	鼻翼点	al
颅后点	op	口角点	ch
鼻根点	n	眼内角点	en
鼻下点	sn	眼外角点	ex
颏下点	gn	睑外缘点	ek 或 ec
颏前点	pg	颧点	zy
鼻尖点	rhi	下颌角点	go
鼻棘点	ns	尖牙点	ca
下齿槽点	id	眉心点	sc
上齿槽前缘点	pr		

（引自陈世贤《法医人类学》P122）

2. 标志线　颜面部位的标志线共有 8 条，见图 10－1。

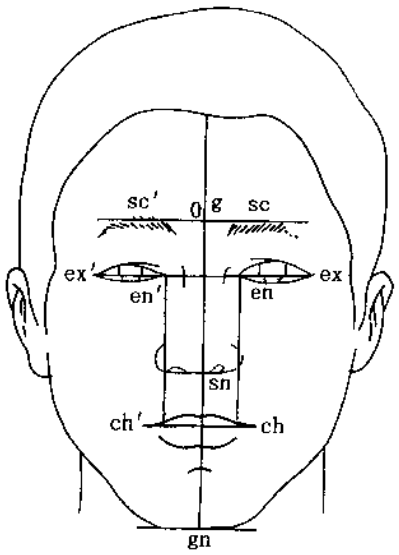


图 10－1　颜面上的标志线

sc（sc′）：眉心点；g：眉间点；ex（ex′）：眼外角点；en（en′）：眼内角点；sn：鼻下点；ch（ch′）：口角点；gn：颏下点；o：sc′－sc 线与 g－sn－gn 线的交点；g－sn－gn：正中线；ex′－ex：眼外角点连线；sc′－sc：眉心点连线；－sn－：鼻下点线；en－ch（en′－ch′）：眼内角点垂线；ch′－ch：口角点连线；－gn－：颏下点线

(1)正中线(g－sn－gn)　过眉间点、鼻下点和颏下点的一条直线。该线与眼外角点连线垂直,是确定仰俯指数的重要标志线。

(2)眼外角点连线(ex－ex′)　左右眼外角点的连线。该线与正中线垂直并相交于o点,是确定偏转指数的重要标志线。

(3)眉心点连线(sc－sc′)　左右眉心点的连线。该线通过眉间点与正中线垂直,与眼外角点连线平行。

(4)鼻下点线(－sn－)　过鼻下点的一条直线。该线与眼外角点连线平行,与正中线垂直。

(5)眼内角点垂线(en－ch,en′－ch′)　为一对连接眼内角点和口角点的连线。该线与正中线平行,与眼外角点连线垂直。

(6)口角点连线(ch－ch′)　左右口角点的连线,也称口裂线。该线与正中线垂直,与眼外角点连线平行。

(7)颏下点线(－gn－)　过颏下点的一条直线。该线与正中线垂直,与口角点连线平行。

3.取点作线方法

(1)眼外角点与眼外角点连线　眼外角点即在眼裂外侧的上下眼睑交合处。正位人像两侧眼外角点的连线即为眼外角点连线。

(2)眉间点与正中线　眉间点即鼻骨上方额骨眉间隆起的中央点。过此点作眼外角点连线的垂线即为正中线。

(3)眉心点与眉心点连线　眉心点在眉毛中心,相当于瞳孔中心上方眶上缘的位置。正位人像两侧眉心点的连线即为眉心点连线,人像呈偏转位时,则应从偏转对侧取眉心点作正中线的垂线。

(4)鼻下点与鼻下点线　鼻下点为鼻中隔下缘和上唇皮肤移行部所构成的交角点。从该点作正中线的垂线即为鼻下点线。

(5)眼内角点与眼内角点垂线　眼内角点即在眼裂内侧上下眼睑的交合处。分别从左右眼内角点向下作正中线的平行线,达口角点连线止,即为眼内角点垂线。

(6)口角点与口角点连线　口角点即在口角上下唇交合处。在闭口位时,从上下唇中心交点作正中线的垂线,长度达两侧口角点;在张口位或人像处于仰俯方位时,两侧口角点的连线即为口角点连线;当人像一侧口角点高、一侧口角点低时,即以一侧口角点作正中线的垂线即可。

(7)颏下点与颏下点线　颏下点位于下颌颏部最下方正中点,在照片上可在下颌颏部阴影边缘分界处取此点。从该点作正中线的垂线即为颏下点线。

(8)眼外角点垂线　起于两侧眼外角点、平行于正中线止于颏下点线。

(二)水平偏转指数和偏转角度

水平偏转指数(horizontal deflection index,HDI)为偏转侧眼外角点(ex)至正中线的距离与偏转对侧眼外角点(ex′)至正中线的距离之比。设眼外角点连线ex－ex′与正中线g－sn－gn相交于o点,并将ex－ex′分为ex－o和o－ex′,分别测量其长度,则

$$HDL=(ex-o)/(o-ex')$$

计算偏转指数时,总是把偏转侧距离作为分子,偏转对侧距离作为分母,故偏转指数总是为一个小于1的正值。

通过研究发现,偏转指数和偏转角度之间呈反比直线关系,即随偏转指数增大,偏转角度缩小,当偏转指数为1时,偏转角度为0。回归方程式为:

$Y=91.33-89.09X$　　标准估计误差 $S_{xy}=1.83$

Y:偏转角度;X:偏转指数。

颅骨像的偏转角度也可用上述公式计算,所不同的是以颅骨双眶外缘点代替双眼外角点,先计算颅骨像的偏转指数,再按上述公式计算偏转角度。

(三)仰俯指数和仰俯角度

仰俯指数(pitch index,PI)为正中线上眉间点(g)至鼻下点(sn)的距离(g－sn)与鼻下点(sn)至颏下点(gn)的距离(sn－gn)之比,即

$$PI = (g - sn)/(sn - gn)$$

当人像没有仰俯位变化,即当正中线与地面呈垂直关系时,PI＝0.96。当人像仰俯在－20°~ ＋20°范围内,随着角度的增加,仰俯指数减小,呈一反比直线关系。回归方程式为:

$$Y = 94.54 - 98.70X \qquad S_{xy} = 1.38$$

Y:仰俯角度;X:仰俯指数。

颅骨像的仰俯角度可用上述公式计算,所不同的是以颅骨鼻棘点代替鼻下点,即仰俯指数为眉间点至鼻棘点的距离与鼻棘点至颏下点的距离之比。

二、颅骨准备

对头颅骨的整复和审定,是颅像重合技术中一个重要的环节。在详细勘查现场的基础上,提取颅骨(尽量把颅骨碎片和脱落的牙齿一起提取送检)。仔细观察头颅骨的解剖学特征,如颅型、下颌角型、下颌颏型、眶型和梨状孔状态等,以及头颅骨的病理、生理情况;检验有无损伤,是否完整;记录牙齿的详细情况,特别是前牙状态。

(一)颅骨清理和修复

在进行法医学检验前,头颅骨都要经过煮沸消毒,除去软组织。如颅骨有破损,必须按正常解剖形态关系进行整复,用硝基清漆或"502"胶粘合固定。在整复过程中,凡是能找到的牙齿都要进行复位。正确固定下颌骨,一般以第1、2磨牙咬合位置为基础,并在下颌关节加软塑料泥。然后用10号白丝线固定下颌颈与颧骨的颧突,固定的松紧程度以使上下磨牙达到自然咬合位(即在咬合面留有1 mm裂隙)为宜。

(二)颅骨审定

颅像重合前先要根据颅骨判断颅骨身源的性别、年龄和身高。

1. 性别判断　一般而言,男性颅骨较大、较重,骨板较厚,表面粗糙,肌嵴、骨突发达,骨性标志明显;女性颅骨则较小、较轻,骨板较薄,表面光滑,肌嵴和压迹微弱或缺乏,骨突欠发达,骨性标志不明显。详见有关骨骼检验书籍。

2. 年龄推断　目前尚无判断年龄的准确方法,主要根据颅缝愈合,下颌角形态,牙齿萌出及磨耗,牙槽骨萎缩等指标进行大致推断。详见有关骨骼检验书籍。

3. 身高推断　根据颅骨推算身高可以按照以下公式进行。

(1)身高＝颅骨垂直径×7(cm)

颅骨垂直径:颅顶的前囟点(b)至颏下点(gn)之间的直线距离。

(2)身高＝1.32 颅围＋94.73 ± 5.63(cm)

颅围:为通过眉间点和颅后点的颅骨周径的长度,与矢状面垂直。

(三)颅骨标定

用黑墨水在颅骨上标记以下各点,形成2 mm大小的标志点,见图10－2。

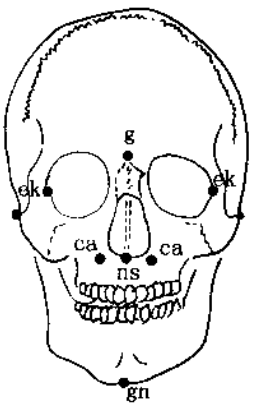


图10－2　颅骨标志点

1. 眉间点(g)　颅骨处于法兰克福平面位置时,额骨左右两眉弓之间在正中矢状面上最前突之点。

2. 眶外结节点(ek)　在眶外缘的额颧缝下方0.8~1 cm处,可摸到一个小的骨性突起,在突起相应

的眶外缘处。

3. 鼻棘点(ns)　在梨状孔左右两半下缘最低点的切线与正中矢状面相交处,有时标记在鼻棘骨性突起尖端。

4. 尖牙点(ca)　在上颌尖牙牙槽根部、骨性突起的尖端。

5. 颏下点(gn)　下颌颏部最下方的中心点。

(四)颅骨标志点与照片标志点、标志线的关系

一般所说的标志点和颅骨的关系,是指正位人像而言。当人像的方位角度变化时,照片颜面标志点和颅骨的相互关系也发生变化。

颅骨和人像照片颜面标志点、标志线之间的相互关系指标如下。

1. 眉心点至眶上缘切线的距离　眶上缘切线是颅骨两侧眼眶上缘弧状弯曲顶点间的连线。正位时(即仰俯0度),这一距离为(-0.69±1.74)mm。该距离随仰俯角度变化的规律是:

$Y = 0.98 + 0.298X$(mm)

X:照片上人像的仰俯角度,仰位时X为正值,俯位时X为负值。

Y:眉心点与眶上缘切线的距离。

Y为负值,表示眉心点位于眶上缘切线的下方。

2. 眼外角点至眶外缘切线的距离　也称眼外角点至眶外缘点的距离;眶外缘切线是通过眶外缘点所作的与正中线平行的切线。在偏转0度时,这一距离为(2.18±0.457)mm。该距离随偏转角度变化的规律是:

$Y = (X - 6.13)/(1.031\ 4 + 4.603 \times 10 - 2X)$(mm)

X:照片上人像的偏转角度;

Y:眼外角点至眶外缘切线的距离。

3. 鼻下点至梨状孔下缘切线的距离　梨状孔下缘切线是一条与正中线垂直与梨状孔下缘弧线相切的直线。在仰俯0度时,这一距离为(-3.36±1.77)mm。该距离随仰俯角度变化的规律是:

$Y = -2.919 + 0.47X$(mm)

X:照片上人像的仰俯角度;

Y:鼻下点至梨状孔下缘切线的距离。

Y为负值,表示鼻下点位于梨状孔下缘切线的下方。

4. 眼外角点指数　眼外角点指数是眼外角点至眶上缘切线的距离和眶高的比值,表示眼外角点在眼眶垂直方向上的位置。在仰俯0度时,这一指数为0.61±0.05。该指数随仰俯角度也会发生有规律的变化。

5. 眼内角点指数　眼内角点指数是眼内角点至眶上缘切线的距离和眶高的比值,表示眼内角点在眼眶垂直方向上的位置。在仰俯0度时,这一指数为0.67±0.05。该指数随仰俯角度变化的规律是:

$Y = 0.658\ 6 - 0.005\ 7X$

X:照片上人像的仰俯角度;

Y:眼内角点指数。

6. 眼内角间宽指数　眼内角间宽指数是左右眼内角点间距与左右眶外缘点间距的比值,表示眼内角点在眼眶水平方向上的位置。在偏转0度时,这一指数为0.37±0.02。该指数较稳定,即使人像偏转也变化不大,故其变化可忽略不计。

7. 口裂线指数　也称口角点连线指数。口裂线指数是上齿槽前缘点至口裂线的距离与下齿槽点至口裂线的距离的比值,表示上下齿槽缘和口裂线的关系。在仰俯0度时,这一指数为1.103±0.236。该指数在人像呈不同角度时,变化很小,故其变化也可忽略不计。

（五）颅骨固定

将标定好的颅骨安装在距摄像机 1 m 处的颅骨调换器上，调整颅骨的偏转角度和仰俯角度，使与人像的相应角度误差小于 3°，便可进行重合投影。

三、重合投影

TLGA－213 图像重合鉴定处理系统可自动合成重合投影。

1. 摄照片像　将人像照片置于载物台上，并将摄像机镜头对准照片，调整摄像机的焦距，使照片处于荧光屏幕中心位置，并获得最佳图像效果（照片图 10－1）。

2. 设置审定线　通过主菜单调出线设置程序，直接在屏幕图像上的规定部位设置审定线，见照片图 10－2。

3. 审定照片方位、角度　输入人像照片的偏转侧、偏转对侧外眼点至正中线的距离，眉心线至鼻下线、鼻下线至颌下线的距离，由程序计算出偏转、仰俯指数及偏转、仰俯角度。

4. 颅骨图像调整　在荧光屏幕上保留审定线而人照片像屏蔽的情况下，显出颅骨图像（照片图 10－3），输入颅骨的上述 4 个相应的距离数据，对颅骨的偏转、仰俯角度进行审定。如果颅骨的偏转或仰俯角度与人像的角度相差 3°以上，则需对颅骨方位角度进行调整，直至两者偏转角度和仰俯角度各相差小于 3°为止。若颅骨和人像的方位角度相差 3°以上，将使重合结果不可靠。

5. 重合投影　通过特殊信号控制器，同时在荧光屏幕上显示照片人像与颅骨像，完成重合投影（照片图 10－4）。

第三节　颅像重合术的结果认定

用 TLGA－213 颅骨身源鉴定仪进行颅像重合，首先根据水平偏转指数和仰俯指数审定失踪人照片上的摄像角度，然后根据照片上的方位角度调整颅骨重合角度，当两者的方位角度相差符合审定要求后，应用中国汉族成年人颅像重合鉴定标准，对各项指标重合情况进行同一认定。

一、认定标准

颅像重合除了要根据颅骨上的标志点和照片上人像头部的标志点、标志线的重合情况来判断颅骨和照片是否出自同一人外，还要看颅骨的轮廓曲线和照片上人像的轮廓曲线的形态是否一致，而头面部的软组织厚度亦是判断颅骨和照片是否出自同一人的又一个重要指标。所以，颅像重合的认定标准可归纳为四大项，8 条标志线的审定、相关指数的审定、软组织厚度的审定和轮廓曲线的审定，共有 52 个认定指标。

1. 8 条标志线的审定　见表 10－2。

2. 相关指数的审定　见表 10－3。

3. 软组织厚度的审定　软组织厚度是指照片颜面相应部位的软组织与颅骨像外缘之间的重合投影平面距离。由于透视成像原理的影响，不同偏转角度会使软组织的厚度值有所变化，见表 10－4。软组织厚度的审定，见表 10－5。

4. 轮廓曲线的审定　轮廓曲线是指在重合像上，颜面软组织与颅骨像外缘轮廓相应间形态及弯曲程度的平面重合投影关系。由于有些被检照片上的人像有偏转角度，一些轮廓曲线无法观察到。轮廓曲线的出现和照片上人像偏转角度的关系见表 10－6，轮廓曲线的审定见表 10－7。

表 10－2　8 条线的审定

项　目	标　准
眼外角点连线和眶外点连线	(1)眼外角点连线长:男 96 mm,女 91 mm
	(2)眶外缘点连线长:男 102 mm,女 98 mm
正中线	(3)Y≈0.067 X　Y 为偏转时人像和颅骨像正中线分开距离,X 为偏转角度
眉心线和眶上缘切线	(4)正位:－0.69 mm ± 1.74 mm 仰俯:Y = 0.98 + 0.298 X
	(5)眉间点 g 正位时:－1.24 mm ± 1.60 mm
鼻下线和梨状孔下缘切线	(6)正位:－3.63 mm ± 1.769 mm 仰俯:Y = －2.918 6 ± 0.469 6 X
口角线和上齿部	(7)正位:口角点投影在上颌 5、6 齿间
	(8)正位:口角线在上中门齿切缘上 2.0 mm
颏下点线与下颌颏部	(9)7.37 mm ± 1.07 mm
左眼内角点垂线和左尖牙点	(10)正位 0.05 mm ± 0.71 mm
右眼内角点垂线和右尖牙点	(11)正位 0.05 mm ± 0.65 mm

(引自陈世贤《法医人类学》P128)

表 10－3　相关指数的审定

项　目	标　准
眼内角点指数	(12)正位:0.67 ± 0.047 仰俯:Y = 0.658 6 － 5.714 × 10^{-3}X
眼外角点指数	(13)正位:0.61 ± 0.05
眼内角点间距离指数	(14)正位:0.67 ± 0.047 仰俯:Y = 0.658 6 － 5.714 × 10^{-3}X
眼外角点间距离指数	(15)正位:0.94 ± 0.02
下颌角间距指数	(16)正位:0.799 ± 0.04
口角线指数	(17)1.183 ± 0.24
眼外角点至眶外缘点的距离	(18)正位:2.18 mm ± 0.457 mm
耳屏点距骨性耳孔距离	(19)正位:12.66 mm ± 2.80 mm

(引自陈世贤《法医人类学》P128)

表 10－4 不同偏转角度时的软组织厚度(X ± S.D)(mm)

标志点		偏转角度					
		0	15	30	45	60	90
头顶(v)		6.08 ± 0.84	6.12 ± 0.82	6.12 ± 0.96	6.04 ± 0.76	6.10 ± 0.74	6.22 ± 0.94
颏下(gn)		7.37 ± 1.87	7.61 ± 1.57	7.50 ± 1.42	7.38 ± 1.45	7.25 ± 1.31	7.41 ± 1.31
颅侧(eu)	左	7.34 ± 1.28	8.20 ± 1.27				
	右	7.27 ± 1.23	7.30 ± 1.14				
颧弓(zy)	左	6.95 ± 1.61	8.53 ± 1.79	6.69 ± 1.66			
	右	6.95 ± 1.61	5.96 ± 1.54				
耳屏(t)	左	8.34 ± 1.79	8.90 ± 1.79				
	右	8.34 ± 1.79	6.11 ± 1.25				
下颌角(go)	左	10.28 ± 2.46	14.5 ± 3.11	15.82 ± 2.7	14.8 ± 2.13		
	右	10.28 ± 2.46	10.1 ± 2.55				
额骨			9.22 ± 1.57	10.3 ± 1.58	10.9 ± 1.57	11.30 ± 1.56	
颅后(op)							6.95 ± 1.38
发缘(tr)							5.03 ± 1.64
眉间(g)							5.71 ± 0.94
鼻背(rhi)							3.13 ± 2.20
鼻下(sn)							10.6 ± 2.57
颏前(pg)							11.3 ± 2.48

(引自陈世贤《法医人类学》P125)

表 10－5 软组织厚度的审定

项目	标准(mm)			
	男		女	
颅顶点	(20)	7.95 ± 0.64	(33)	6.08 ± 0.84
侧颅点	(21)	7.65 ± 0.68		
颧弓点	(22)	6.56 ± 0.57	(34)	左 6.95 ± 1.67
				右 6.96 ± 1.61
耳屏点	(23)	9.27 ± 0.87		
下颌角点	(24)	12.90 ± 1.10	(35)	左 10.80 ± 2.46
				右 10.82 ± 2.47
颏下点	(25)	6.46 ± 0.74	(36)	7.37 ± 1.87
额 点	(26)	9.16 ± 0.87	(37)	9.22 ± 1.57
颅后点	(27)	8.26 ± 0.87	(38)	6.95 ± 1.38
发际点	(28)	5.63 ± 0.72	(39)	6.95 ± 1.38
眉间点	(29)	6.59 ± 0.87	(40)	5.71 ± 0.98
鼻背点	(30)	2.68 ± 0.37	(41)	3.18 ± 2.20
鼻下点	(31)	12.74 ± 1.18	(42)	10.59 ± 2.57
颏前点	(32)	12.77 ± 0.99	(43)	11.29 ± 2.48

(引自陈世贤《法医人类学》P128)

表 10－6　轮廓曲线的出现与偏转角度的关系

轮廓曲线	水平偏转角度					
	0°	15°	30°	45°	60°	90°
头穹隆	+	+	+	+	－	－
眉弓(左)	+	+	+	+	+	－
眉弓(右)	+	+	+	+	+	+
鼻	+	+	+	+	+	+
下颌角(左)	+	+	+	－	－	－
下颌角(右)	+	+	+	+	+	+
下颌	+	+	+	+	+	+
颅后	－	－	－	－	－	+
前额	－	－	－	－	－	+
颏隆凸	－	－	－	－	－	+
颧弓(左)	+	+	+	－	－	－
颧弓(右)	+	－	－	－	－	－

注：+能看到，－看不到

（引自陈世贤《法医人类学》P125）

表 10－7　轮廓曲线的审定

项　目	标　准
头穹隆曲线	(44)人像与颅骨形态一致，测量头顶点 v、侧头点 co 软组织厚度
颧曲线	(45)观察人像与颅骨颧弓形态，测量颧弓点 zy 软组织厚度
下颌角曲线	(46)观察人像与颅骨下颌角形态，测量下颌角点 go 软组织厚度
下颌曲线	(47)观察人像与下颌颏部形态，测量颏下点 gn 软组织厚度
额曲线	(48)侧面像观察额部形态，测量发际点 tr、眉间点 g 软组织厚度
眉弓曲线	(49)观察侧位像眉突形态，测量眉心点 se 软组织厚度
鼻背曲线	(50)观察鼻骨尖形态，测量鼻背点 rhi 软组织厚度
颏前曲线	(51)侧位像观察颏结节形态，测量颏前点 pg 软组织厚度
颅后曲线	(52)侧位像观察后头枕部形态，测量颅后点 op 软组织厚度

（引自陈世贤《法医人类学》P129）

从表 10－4、表 10－6 可知，随人像偏转角度的变化，颜面软组织厚度及轮廓曲线的某些指标随偏转角度增大而出现，某些指标随偏转角度增大而消失。在某一个方位角度可以观察到的指标称为可见指标，不能观察到的指标称为不见指标。颅像重合鉴定颅骨身源时，只有可见指标才是有意义的指标。

二、重合结果的认定

对重合像可见指标检验结果，会出现 3 种情况。

1. 全部指标重合，即全部指标符合认定标准 可认定被检颅骨和失踪人照片是源于同一个人。

2. 有2个或2个以上指标不重合，即与认定标准不符 可认定被检颅骨和失踪人照片不是源于同一个人。

3. 只有一项指标与认定标准不符，而其他指标均与认定标准相符 应进行复核检验，看是否有取点、测量或操作中的错误。如未发现错误，则需取失踪者的其他照片，重新进行颅像重合检验。如果无失踪者的其他照片或重新检验仍有一项不符合，则应考虑其他个人识别手段，如血型测定、DNA分析等，千万不要勉强认定。

三、颅像重合可信性检验

为检验颅像重合的可信性，才东升、兰玉文先做了100例已知身源的颅像重合试验。验证可靠后，又以8条标志线为指标，用10例男性颅骨和700张无关男性照片进行了7 000次重合检验。结果正中线、眉心线和颏下线3条基准线重合的为100%，在3条基准线重合的基础上，共4线重合的为89.96%，共5线重合的为60.8%，共6线重合的为19.6%，共7线重合的为2.43%，共8线重合的为0。说明用8条线作认定标准有较高的特异性。接着他们又以8条标志线和轮廓曲线（颅骨相应部位可见的外沿轮廓曲线）为指标，用10例女性颅骨和1 000张无关女性照片共进行10 000次重合检验。结果：以正中线、外眼点线为基准线，在这2条线重合的基础上，共3线重合的为100%，共4线重合的为55.48%，共5线重合的为13.1%，共6线重合的为2.75%，共7线重合的为0.45%，共8线重合的为0.05%，共9线重合的为0。

才东升、兰玉文对11个颅骨和138张人像进行了546次盲测重合检验，做出同一个人认定的13例，其余作了否定结论。作否定结论的检验中有2例为错误结果，其误判率为0.3%。该2例误判的原因：一例因为人像虚；另一例是因为没有把重合角度差严格控制在3°以内。

由此可见，只要严格按照颅像重合的要求进行操作，按照颅像重合的检定标准进行审定，是能够通过颅像重合术鉴定颅骨的身源的。

现介绍作者经手的1例案件：某年11月23日，某市某县某镇××大道西面石门坑12亩五尾溪边竹林处发现一具白骨化女尸。经调查考虑为某年10月8日失踪的打工女×××（女，18岁，某省某市某镇人），怀疑是被其男友杀害的。随即收审了死者的男朋友，此人否定死者是其女友×××，也否认有杀人事实。12月8日，某县公安局刑警大队送该女尸颅骨与×××的照片给广东省公安厅刑事技术中心鉴定。经TLGA-213型颅像重合仪检验鉴定，认定死者即是×××。侦查人员充满信心加大审讯力度，死者的男朋友最后终于供述了杀害×××的犯罪事实。鉴定照片见照片图10-1至照片图10-4。

参 考 文 献

1 陈世贤. 法医人类学. 北京：人民卫生出版社，1998. 118~130

2 胡炳蔚. 法医检骨与颅像重合. 西安：陕西科学技术出版社，1994. 140~151

3 贾静涛. 法医人类学. 沈阳：辽宁科学技术出版社，1993. 275~288

4 兰玉文. 颅像重合法研究与应用. 北京：群众出版社，1999

5 兰玉文，才东升. 颅像重合鉴定方法的研究. 刑事技术，1982（增刊）：30~31

6 魏焕萍，等. 头面部软组织厚度的观测报告. 中国法医学杂志，1989，4：216~219

7 Sekharan C. A revised superimposition technique for identification of the individual from the skull and photograph. The Journal of Criminal Law，Criminology and Police Science，1971，62：107~113

8 Delfino VP, Colonna M, *et al*. Computer – aided skull/face superimposition. The American Journal of Forensic Medicine and Pathology ,1986,7(3):201 ~ 212

第十一章 冠心病猝死

■ 胡丙杰

第一节 概述

一、冠心病与冠心病猝死的概念

1. 冠心病的概念 冠心病是冠状动脉性心脏病(coronary heart disease,CHD)的简称,是指狭窄性冠状动脉疾病引起的心肌缺氧(供血不足)所造成的缺血性心脏病(ischemic heart disease)。冠心病绝大多数由冠状动脉粥样硬化引起,因此,以前也曾将冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease)简称为冠心病。此外,引起冠心病的原因还有:冠状动脉痉挛,冠状动脉炎,冠状动脉栓塞,先天性冠状动脉畸形,冠状动脉肌桥,冠状动脉瘤等。

2. 冠心病猝死的概念 冠心病猝死,又称冠状动脉性猝死(sudden coronary death),是指由冠状动脉疾病引起的出乎意料的突然死亡。冠心病猝死是心脏性猝死(sudden cardiac death)中最常见的一种,约占61.7%。成年男女均可发生,但男性明显多于女性,比例为(3~5):1。发生年龄男性以30~40岁的中壮年居多,女性则较男性要晚。但近年来冠心病猝死的发生有年轻化的趋势,有年仅20岁即发生重症冠心病猝死的案例。

二、冠心病猝死的特点

1. 多在症状发作后短期内死亡 世界卫生组织规定发病后24 h内发生的意想不到的死亡为猝死,我国也按此标准统计。也有人主张将发病后6 h或1 h内出乎意料死亡者定为猝死。据报道冠心病猝死从症状发作至死亡时间在1 h以内者约占40%以上,这还不包括那些猝死具体时间不明确者。有的病例仅几分钟,甚至几十秒钟即死亡,称为即时死(instantaneous death)。如某男,61岁,农民。一日上午交公粮时,顺便偷拿10 kg化肥装入箩筐内,自以为未被发现而离开粮管所现场。当他出门仅走十几

米远，被一工作人员追上大喊一声站住、并令其将化肥送回时，当即面色苍白、浑身发抖，突然倒地死亡。尸检见冠状动脉粥样硬化，4 个主要分支病变均为 4 级，其中左前降支和左旋支并发斑块内出血，而未见其他疾病和损伤，被鉴定为冠心病猝死。

2. 多以猝死为首发表现　冠心病猝死者仅少数人生前有一定的症状、体征，多数病例无明显症状、体征，故平时看起来貌似健康，一旦发病即表现为猝死。有的虽然生前有轻度症状、体征，如胸痛、心慌等，但因未予注意并未诊治，亦未被他人察觉，一旦再次严重发作，便迅速死亡。

3. 多数猝死发生在医院外　由于大部分冠心病患者生前无明显症状、体征，当在家中、宿舍、工作场所或路途中发病后，未及时救治而发生猝死；有的虽然在症状发作后准备就医，但因发病迅速，往往猝死于送医院的途中。

4. 有猝死危险因素者居多　一般认为冠心病的易患因素即是冠心病猝死的危险因素。冠心病易患因素是：①血清胆固醇≥2.5 g/L；②高血压（舒张压≥90 mmHg）；③吸烟者；④糖尿病。但随着医学模式的转变，现在人们注意从生活方式、行为活动方面去探讨冠心病的易患因素，如饮食、情绪、身体活动状况等。因而对那些能诱发冠心病猝死的诱因都可视其为猝死危险因素，如体力活动增加、劳累、精神紧张、情绪激动等。

三、冠心病猝死的诱因和先兆症状

根据冠心病猝死时有无目击者，将冠心病猝死发生的案情分为有目击者和无目击者 2 种。这对冠心病猝死者的检验和鉴定具有重要意义。无目击者是指猝死时无人在场，或虽有人在场，但未注意或察觉到死亡发生时的症状、体征。有的在夜间睡眠中发病：多在家中或集体宿舍中死亡，如二人同宿一室，甚至共睡一床，但其中一人并不知道另一人已发生猝死。无目击者的冠心病猝死易使人怀疑为暴力死，而有目击者在场则对其检验和鉴定很有帮助。如某男，36 岁，干部，某日与本单位另一职员同睡一床，准备次日一起乘船出差办事，当这位职员早晨醒后踢他一脚想喊醒他时发现其已死亡。职员对其何时死亡，有无任何症状、体征并不知晓。

部分冠心病猝死者发病时有明显诱因。常见的诱因有：劳累、体力活动增加、争吵、斗殴、情绪激动、惊吓、精神紧张、外伤、饮酒、吸烟、感冒受凉等。特别是争吵、打架受伤过程中发生的猝死，常使人怀疑为外伤死亡而引起法律纠纷。如某男，47 岁，汽车司机，一日上午 11 时 10 分与人争吵中头左颞部被打一拳，当时颜面变白，出冷汗，即送医院给予对症治疗。中午 12 时 10 分在门诊诊察室突发心慌、烦躁不安、肢体抽搐，迅即死亡。怀疑被拳击而死。尸检见冠状动脉左前降支粥样斑块病变 4 级并发斑块内出血，右主支 4 级、左主干 2 级，除左颞部有皮下及肌间轻度出血外，未见明显损伤。鉴定为冠心病猝死，拳击头部为诱因。

多数冠心病猝死者无明显能识别的诱因，常在睡眠、休息或轻度活动中死亡。陈新山等（1991 年）报道 128 例中 83 例未发现明显诱因，占 63.8%，其中睡眠时发生猝死者 70 例，占 55%。如某男，51 岁，干部，一日白天上班无异常，晚餐后自觉头昏、恶心。其后于 7 时 30 分到隔壁同事家闲谈时曾诉胸闷。约近 8 时站在阳台上谈话过程中突然口吐白沫，意识不清，小便失禁，在不到 20 min 内死亡，从开始感觉不适到死亡时约 2 h。过去病史除有慢性气管炎外无特殊病史。

有的冠心病猝死者在死亡发生前短期内有胸痛、胸闷、心前区疼痛、心慌、头晕、恶心、喘气、出汗或全身不适等先兆症状，多数病例则无。少数病例可有腹痛、胃痛等症状而被误诊为胃炎、肠炎、肾绞痛。如某男，46 岁，工人，某日下午 7 时 30 分在家吃了一个糖包子后感胸部疼痛，并呕吐酸水一次，接着胸痛加剧，时有呕吐，送厂医务室检查见呈痛苦面容，出汗，肢冷，被诊断为“急性胃肠炎”。经对症治疗后稍好转，回家休息。于次日凌晨 1 时，胸痛加重，1 时 50 分突然心跳、呼吸停止而死亡。尸检见冠状动脉左前降支、左旋支及右主支粥样斑块病变 4 级，左主干 2 级，未见其他明显病变，常见毒物化验结果为

阴性，被鉴定为冠心病猝死。有的病例在猝死时有鼾声大、呼吸急促或缓慢、口吐泡沫、呻吟或惊叫、肢体抽搐、小便失禁等猝死危象表现。在法医检案过程中，如能调查到有人发现或观察到这些猝死危象，则有利于冠心病猝死的诊断和鉴定。如某男，37岁，干部。一日乘火车途中于中午12时与另一同事在餐车就餐，并喝啤酒2杯，约于下午1时30分回卧铺上休息。到3时许，同车箱旅客发现他鼾声特别，呼吸困难，四肢抽搐，呼之不应。通过服务员请来医生检查时见心跳、呼吸很微弱，抢救无效，于3时30分死亡。尸检见冠状动脉左前降支粥样斑块病变4级伴新鲜血栓形成，右主支病变4级并见机化血栓，左主干病变2级，左旋支1级；其他器官未见明显病变；常见毒物化验结果阴性。被鉴定为冠心病猝死。

第二节 冠心病猝死时心脏的病理变化

一、冠状动脉的病理变化

1. 冠状动脉粥样硬化 为最常见的狭窄性冠状动脉疾病，特别是肌壁外冠状动脉支的动脉粥样硬化。冠状动脉近侧段之所以好发动脉粥样硬化，是由于它比所有器官动脉都靠近心室，因而承受最大的收缩压撞击。其次，冠状动脉血管树由于心脏的形状而有多数方向改变，因而亦承受较大的血流剪应力。

(1)好发部位 据我国6 352例尸检统计，病变的总检出率、狭窄检出率和平均级别均以前降支最高，其余依次为右主干、左主干或左旋支、后降支。性别差异：20～50岁病变检出率，男性显著高于女性；60岁以后男女无明显差异。

(2)病变特点 粥样斑块的分布规律是左心侧重于右心侧、大支重于小支、近端重于远端及分支口处较重。早期，斑块分散，呈节段性分布，随着疾病的进展，相邻的斑块可互相融合。在动脉横切面上斑块多呈新月形，位于靠心肌侧，管腔呈不同程度的狭窄。有时可并发血栓形成，使管腔完全阻塞。根据斑块引起管腔狭窄的程度可将其分为4级：Ⅰ级，管腔狭窄在25%以下；Ⅱ级，狭窄在26%～50%；Ⅲ级，狭窄在51%～75%；Ⅳ级，狭窄在76%以上。

(3)少数病例伴有急性病变 包括新近血栓形成、斑块内出血、斑块裂隙形成和管腔内皮损伤。这些病变的检出率与各人检查冠状动脉的方式、方法和工作细致程度有关。例如可能因为疏忽、或未作病理组织学切片检查、或未切到上述病变而漏诊。

1)新近血栓形成 冠状动脉粥样硬化急性病变中，最重要的是新近血栓形成，但其检出率各家报道不一，差异较大，从5%到75%不等。陈新山等(1991年)报道的128例中仅18例，占14%。Gasser则认为大多数冠心病猝死病例几无血栓形成。血栓形成多位于原有严重冠状动脉粥样硬化斑块狭窄处，特别是有斑块破裂或其他冠脉急性病变处，以左前降支和右主支多见，其长短不一，大小不等。由于血栓形成，加重了管腔狭窄程度，甚至将该处管腔完全堵塞。

2)斑块裂隙形成 斑块裂隙形成(plaque fissuring)是指斑块因表面破溃而形成的开放性裂口。Davies认为斑块裂隙比过去常见，并是动脉粥样硬化进展的一个原因。但把斑块裂隙视为一种主要而常见的致死病变并未被广泛接受。斑块裂隙常见于冠状动脉有严重狭窄的节段和血栓好发的部位，表层纤维帽薄的斑块比其厚者易形成斑块裂隙。斑块裂隙除可致管腔内或内膜下血栓形成和斑块内出血外，还可引起局部血管痉挛，从而加重病情进一步发展，导致猝死。

3)斑块内出血 是指斑块内有红细胞积聚。出血来自斑块底部或边缘新生的薄壁血管。有的出血可形成小血肿，增加斑块面积从而加重管腔狭窄程度。斑块内出血在冠心病猝死者尸检中较常见。Cliff报道34例冠心病猝死中，29例至少各有一处斑块内出血，而22例对照组中仅有8例。

4)内皮损伤 近年来特别注意内皮损伤在冠状动脉急性病变中所起的作用。它不仅增加内皮表面的通透性和血小板聚集，而且可致内源性血管扩张物质的丢失，如前列环素、内皮源性松弛因子和具

有防止血栓形成作用的内源性物质。内皮损伤易发生在重度斑块处，血小板聚集也可发生在内皮损伤的任何阶段，最终致阻塞性血栓形成。因此内皮损伤往往伴发血栓形成。

除上述急性病变外，有的病例可检见斑块钙化等动脉粥样硬化继发病变。粥样斑块因有钙盐沉着而变硬、变脆，并易脱落而形成溃疡。有的病例还可见冠状动脉的炎细胞浸润，即在斑块内、中及外膜处有慢性炎细胞浸润，以外膜最重；炎细胞的种类主要为淋巴细胞，也有浆细胞和巨噬细胞。过去对炎细胞浸润的报道不多，亦未引起重视。近年来认为冠状动脉斑块内及其外膜的炎细胞浸润在冠心病猝死中可能有作用，值得进一步深入研究。

(4)冠状动脉痉挛　有人在研究心源性猝死病例中发现，部分病例的冠状动脉粥样硬化斑块并未完全堵塞管腔，斑块合并血栓形成者也仅见于1/3病例，在发作后12 h内死亡的患者中也只占50%，故认为冠状动脉痉挛是造成心脏供血中断的主要原因之一，至少有相当部分案例是由冠状动脉痉挛引起的。近年来，由于心血管造影技术的应用，已证实冠状动脉痉挛可引起心绞痛和心肌梗死。较多病人冠状动脉痉挛发生于已有粥样硬化病变的基础上。但在尸检中尚未查到冠状动脉痉挛的形态依据。

2. 冠状动脉炎　冠状动脉的炎症可引起冠状动脉狭窄，甚至完全闭塞而造成缺血性心脏病，例如，结节性多动脉炎、巨细胞性动脉炎、高安动脉炎、Wegener肉芽肿病均可累及冠状动脉。此外，梅毒性主动脉炎亦可造成冠状动脉口狭窄，但都比较少见。

(1)结节性冠状动脉炎　是结节性多动脉炎(polyarteritis nodose)在冠状动脉的表现，结节性多动脉炎是一种全身中、小动脉变态反应性疾病，又称结节性动脉周围炎。本病原因未明，可能与感染、药物及过敏反应有关，属于胶原性疾病。患者年龄多在20～40岁之间，男女之比(3～4)∶1。婴儿和儿童因患结节性多发性动脉炎累及冠状动脉而引起猝死者，其发生率仅次于婴幼儿猝死综合征。这种动脉炎与黏膜皮肤淋巴结综合征(kawasaki disease)之间有一定关系，伴此病的婴儿1%～2%可发生猝死。这些病例经尸检证实，心脏有结节性多发性动脉炎病变。病变主要侵犯心、肾、肝、胃肠等，少数只累及某一器官。近年来，随着各种药物的广泛应用，本病有增加趋势。在致死的病例中，冠状动脉受累占70%左右。猝死前可出现心前区疼痛、心慌、呼吸困难等症状。

冠状动脉及其分支病变呈灶性分布。典型者形成小结节，直径2～4 mm，呈灰白色，排成串珠状，有时肉眼观察病变不明显，需多做切片检查。光镜下，动脉壁发生纤维素样坏死、动脉壁及周围炎症反应为其特点。纤维素样坏死多自中膜开始，逐渐向内膜及外膜扩展，遍及管壁全层，并有中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及浆细胞浸润，尤以外膜及动脉周围的疏松结缔组织为明显，即形成肉眼所见的小结节坏死，严重者可形成动脉瘤或血管破裂。若度过急性期，因管壁纤维化和内膜增厚，导致管腔狭窄或闭塞，由此可引起心肌供血不足，发生心肌梗死。

应仔细地检查身体其他部位的中、小动脉(如胃动脉、肠系膜动脉、肾动脉、肝动脉及其他肌型动脉等)，因为在这些动脉内也可能同时发生类似的改变。

(2)风湿性冠状动脉炎(rheumatic coronary arteritis)　较为多见。因急性风湿热时冠状动脉的大小分支常受侵犯，尤其是传导系统的冠状动脉分支处血栓形成及心肌梗死，易导致患者突然死亡。

风湿性冠状动脉炎的病变特点常为全动脉炎，即炎症累及血管全层和血管周围。活动期病变，可见冠状动脉壁黏液样变性；灶性纤维蛋白性坏死及炎症细胞浸润，主要为淋巴细胞、浆细胞，偶见中性粒细胞。在外膜或血管周围尚可见风湿小结形成。病变后期，动脉内膜增厚，管壁瘢痕形成，以致血管增厚、变硬，管腔狭窄，甚至继发血栓形成和心肌梗死。风湿性冠状动脉炎通常是风湿性全心炎的一部分，因此，死于风湿性冠状动脉炎的患者，常同时可检见心脏的风湿活动病变；但死于风湿后期的冠状动脉炎患者，有时不易证实是由风湿病所引起。

(3)巨细胞性冠状动脉炎　是巨细胞性动脉炎(giant cell arteritis)累及冠状动脉所致，巨细胞性动脉炎是一种弥漫性主动脉疾病，常累及颞动脉及其他颅内动脉，多见于老年人。病变特点主要是动脉壁中层平滑肌变性、坏死，内弹力膜处出现肉芽肿性炎症。肉芽肿中多见巨细胞，这些巨细胞可为异物巨

细胞，偶在巨细胞胞质中可见断裂的内弹力板碎片。内膜无炎症反应。最后冠状动脉纤维化变成纤维素条状，管腔狭窄，血栓形成，甚至完全堵塞。

(4)结核性冠状动脉炎　结核性冠状动脉炎(tuberculous coronary arteritis)较少见，多数是严重的血行播散引起。病变特点是形成闭塞性动脉内膜炎，动脉附近可见典型的结核结节或干酪样坏死灶，管腔逐渐变狭窄，甚至完全阻塞。有时动脉壁大片干酪样坏死，可扩展至外膜，动脉壁变薄而形成动脉瘤，甚至破裂。尸检时除了检验冠状动脉结核性动脉炎改变外，应注意全身其他器官结核性病理改变。

(5)高安动脉炎(Takayasu's arteritis)　本病病因未明，有的学者认为属结缔组织病范畴。目前多认为系一种自身免疫性疾病，部分病人 IgG 水平升高，患者血清中可检出抗主动脉抗体。此病又称为特发性主动脉炎(idiopathic aortitis)、无脉症(pulseless disease)、主动脉弓综合征、缩窄性大动脉炎、闭塞性增生性主动脉炎、非特异性主动脉炎等。多见于年轻妇女。此病在我国、日本、东南亚比欧美各国多见，病程数月到数十年，可发生猝死。

病变部位在主动脉及较大的弹力型动脉。主动脉以主动脉弓受累最多，腹主动脉次之，胸主动脉最少。弹力型动脉以头臂动脉分支最多，肾动脉、肺动脉、肠系膜动脉、髂动脉也常波及。冠状动脉除开口处受波及外，也可累及 3 个主要分支，引起狭窄。病变特点为动脉壁呈节段性广泛纤维组织增生。肉眼观，受累主动脉管壁明显增厚、变硬，内膜面不平，重症者有多数斑块降起，其间有树皮样皱纹。病变使管腔狭窄，甚至使其闭塞。镜下，缩窄部管壁内膜增厚，平滑肌细胞增生和基质成分增多，局部黏多糖物质积聚，继而出现纤维素样坏死，内弹力膜断裂或消失；晚期内膜纤维组织玻璃样变性，并有溃疡、钙化和血栓形成。中层的病变最为突出，早期有大量炎症细胞浸润，主要为淋巴细胞、浆细胞、单核细胞及多核巨细胞；少数病例，动脉中层可见类似结核性肉芽肿形成；结缔组织发生黏液样变性及纤维素样坏死，进而中层弹力板破坏，肉芽组织增生，最后导致中层广泛瘢痕形成，使管壁缩窄。病变最重处中层弹力板几乎全部破坏，结缔组织增多，基质含大量蛋白多糖，PAS 染色呈红色。外膜的滋养血管也有类似变化，使外膜增厚，广泛纤维化和玻璃样变，晚期病例中，增厚的外膜可达中层的 1～3 倍。血管壁高度硬化、狭窄。

上述冠状动脉炎可因以下机制导致猝死：①冠状动脉炎性动脉瘤或血管破裂，引起心包腔内出血致反射性心跳骤停或急性心包填塞致死；②由于冠状动脉炎造成进行性管腔狭窄或闭塞，引起心肌缺血、坏死或广泛的心肌纤维化，一旦心脏负荷增加，可致急性心力衰竭而猝死；③可因传导系统的冠状动脉小分支受累，而死于完全性传导阻滞；杨清玉(1992 年)曾报道 1 例男性，边吸烟边看电视时突感心慌及心前区不适后而猝死，尸检见右冠状动脉外膜有大量淋巴细胞及嗜酸性粒细胞浸润；炎症累及传导系统的动脉；④部分患者死于继发血栓形成所引起的心肌梗死。鉴定时主要依据其典型的病理变化并排除其他可能的死因。

3. 冠状动脉栓塞　冠状动脉栓塞(embolism of coronary artery)的栓子多来源于风湿性心脏病、心肌梗死后附壁血栓，也可来自于主动脉根部及冠状动脉内的附壁血栓脱落以及粥样硬化溃疡物的脱落。此外，肿瘤细胞、脂肪滴、羊水中有形成分等也可引起栓塞。

栓塞的部位依栓子的大小，可阻塞在冠状动脉开口处，或离开口不远处，或进入各主要分支，以及肌层小分支。尸检时，当冠状动脉的任何分支发现栓子时，都必须在心脏、大循环内寻找栓子的来源。然后把发现的冠状动脉管腔内栓子与栓子来源处或推测为栓子来源处组织分别制成切片，进行仔细的组织学检查和比对，一般不难解决栓子来源问题。当较小栓子堵塞于小动脉分支的管腔时，患者不一定迅速死亡，只是相应部位心肌可发展为心肌梗死或萎缩，继而发展为纤维化。如果栓子内含有细菌，则在栓子停留的部位可能发生脓肿灶。

冠状动脉栓塞的猝死，多数为冠状血管反射性痉挛所致的心跳骤停；少数为心肌梗死。若为数较多的小栓塞，亦可引起急性心力衰竭。

4. 先天性冠状动脉畸形　先天性冠状动脉畸形多见于青少年，临床上分为重轻 2 型。表现形式多

样：①左、右冠状动脉开口异常，如左冠状动脉开口于右侧主动脉窦，右冠状动脉开口于左侧主动脉窦，左、右冠状动脉在起源处仅一个开口或左、右冠状动脉开口于肺动脉；②左或右一支冠状动脉缺如；③一支冠状动脉及其分支过细等；④可以是单纯的冠状动脉畸形，亦可合并心血管或其他内部器官的畸形。Bellet（1971年）对一家庭的3个猝死成员进行尸检，发现其中一例右冠状动脉及其窦房结动脉分支极为细小。Marou等（1980年）及Tsung等（1982年）报道青年运动员猝死，亦有上述类似改变。张益鹤等（1991年）报道6例单纯性冠状动脉畸形，其中左、右冠状动脉均开口于主动脉左窦内2例；左、右冠状动脉多个开口1例；左或右冠状动脉缺如1例；右旋支缺如1例。刘牧等（1991年）报道1例先天性冠状动脉心腔瘘（左冠脉－右房瘘）睡眠中猝死。

先天性冠状动脉畸形与猝死的关系。多因过度体力活动、精神紧张或恐惧等诱因作用，导致心脏负荷过重和急性冠状动脉功能不全，出现致命性心律失常而猝死。重型畸形者生前多有一定症状和体征，易引起猝死，鉴定并不难。轻型畸形者多可"正常生活和工作"，但在一定条件下也可能发生猝死，鉴定时应慎重，必须具备以下4点才能认定：①具备急性心力衰竭表现，并有明确诱因作用；②冠状动脉发育异常；③与其他冠状动脉疾病鉴别；④必须排除暴力死及其他致命性病变。

5. 冠状动脉口狭窄　冠状动脉口狭窄（stenosis of coronary ostia）主要是指主动脉根部粥样硬化或梅毒性主动脉炎波及冠状动脉口，造成管口不同程度的狭窄，甚至完全闭塞。由于梅毒病变发展是慢性经过，致冠状动脉侧支循环得以充分建立，所以很少引起心肌梗死，但猝死及心绞痛仍属常见。邓仲端等（1965年）报道16例梅毒性主动脉炎所致的冠状动脉口狭窄，其中有9例发生猝死。

冠状动脉口狭窄或闭塞可为一侧，也可两侧同时存在。猝死者尸检时以左侧冠状动脉口狭窄多见。杨清玉等（1989年）报道的193例冠心病猝死者中，冠状动脉口不同程度狭窄为36例，两侧同时存在为16例，单纯左冠状动脉口狭窄为14例，单纯右冠状动脉口狭窄为6例。冠状动脉口狭窄程度与其开口位置有关，即开口位置愈高，狭窄程度愈重。一般可测量冠状动脉口的大小，作为判定病变所致狭窄程度。其直径在2 mm以下者为轻度狭窄；1.5 mm以下者为明显狭窄；1 mm以下者为高度狭窄，有的冠状动脉口如针尖大，几乎完全闭塞。患梅毒性主动脉炎时，在冠状动脉口周围显著增厚的主动脉内膜多呈斑块状隆起或弥漫性增厚，光镜下，增厚的主动脉内膜为大量增生的纤维结缔组织，并有明显玻璃样变。

在冠状动脉口狭窄的基础上心肌供血减少，由于体力活动或情绪波动等诱因，甚至在睡眠中或休息的安静状态下，均可发生反射性冠状动脉痉挛，突然引起大块心肌组织缺血，导致室性心动过速和心室颤动而猝死。冠状动脉口狭窄致猝死的鉴定类似于冠心病猝死，必须在排除了其他各种可能死因之后，检见一侧或双侧明显或高度的冠状动脉口狭窄，且有急性心肌缺血的临床表现和（或）病理变化时才能诊断。如某男，47岁，工人。某日与本单位女会计携巨款潜逃。当晚在急赴汽车站时，突然心前区和左肩剧痛难忍，后很快死亡。疑中毒致死。尸检见主动脉内膜粥样硬化显著，并发左、右冠状动脉口高度狭窄。其他器官无致死病变。尸检未见明显外伤，经毒物分析未检出常见毒物。鉴定为冠状动脉口狭窄猝死。又如王某，男，48岁，工人。平时身体尚好。某日晚，在与众人谈笑时，突感心口疼痛难忍，被送往医院急救无效，20 min后死亡。尸检见梅毒性主动脉炎所致纤维瘢痕收缩，使左、右冠状动脉口高度狭窄，其余各器官无致死性病变。

6. 冠状动脉肌桥　冠状动脉肌桥（coronary artery myocardial bridging）是指跨越冠状动脉左前降支的心肌纤维束，传统观点认为属于少数人正常解剖学变异。Morales认为，过去有些所谓心脏性猝死死因不明者，如有冠状动脉肌桥存在，可用肌桥压迫左前降支血管壁，导致冠状循环供血不足，引起缺血性心肌损害的机制来解释。刘世沧（1993年）报道了3例（男性，年龄分别为15，18，27岁），2例在斗殴后短时死亡，1例睡眠中死亡，死前有醉酒史，解剖发现冠状动脉左前降支近段有肌桥横过，该支冠状动脉供血的心肌有慢性缺血性损害、急性肺水肿，此外，未发现其他重要病变。饮酒、情绪激动和胸部受到钝性暴力打击与突发心律紊乱、心功能障碍有直接关系。

7. 冠状动脉瘤 冠状动脉瘤(cronary artery aneurysm)系由于动脉粥样硬化、动脉炎、梅毒、马凡综合征、夹层动脉瘤或冠状动脉先天性异常等,致血管壁向外膨出而形成。因动脉粥样硬化引起者,多发生于40岁以上;先天性和炎症导致的冠状动脉瘤多见于年轻人;原发性或孤立性冠状动脉夹层动脉瘤很少见。文献报道有50例左右,其中63%发生猝死。多见于40岁以上的妇女。单侧性占86%,多数在左前降支,很少影响心肌内冠状动脉。妇女常发生于妊娠期或分娩后1~2周内。曾有报道与口服避孕药物有关。这些冠状动脉无或只有轻微粥样斑块,很少见有高血压史者。继发性冠状动脉夹层动脉瘤更罕见,如见于心脏损伤(包括心脏复苏过程),选择性冠状动脉造影或心脏外科冠状动脉搭桥术后。Daoud等报道一组冠状动脉瘤病人的统计资料,其中动脉粥样硬化占52%,先天性占17%,结节性多发性动脉炎占11%,夹层动脉瘤占11%,梅毒占4%,病因不明者占5%,有18%发生猝死。

冠状动脉瘤可多发或单发,或多支管腔呈弥漫性扩张,可呈纺锤型、囊状型或混合型,囊状型多见。瘤内可有血栓形成。瘤壁薄,有时可见钙化。

夹层动脉瘤病变特点为冠状动脉内膜撕裂,血流入肌层之间形成血栓,也有报道冠状动脉夹层动脉瘤见于马凡综合征。有人报道血管中膜发生坏死或囊性变,有些病例心肌内形成多发性灶状坏死;久者,形成纤维化病灶。王纪芳等报道3例原发性冠状动脉夹层动脉瘤,1例女性成人,2例男性儿童,病变分别位于右冠状动脉左前降支和左旋支。

冠状动脉瘤可因并发血栓形成,或血栓脱落而引起堵塞远端冠状动脉,进一步加重管腔狭窄或闭塞,患者可因急性心力衰竭、心源性休克或心肌梗死,或因动脉瘤破裂致急性冠状动脉功能不全或急性心包填塞而猝死。夹层动脉瘤可因血肿大压迫冠状动脉而发生急性心肌缺血,导致室颤而死亡。当冠状动脉瘤既无血栓形成,又未发生破裂时,其猝死机制与心肌缺血有关。

二、心肌的病理变化

1. 心肌梗死 心肌梗死(myocardial infarction)是由于绝对性冠状动脉功能不全(coronary insufficiency),伴有冠状动脉供血区的持续性缺血而导致的较大范围的心肌坏死。绝大多数(95%)的心肌梗死局限于左心室一定范围,并大多累及心壁各层(透壁性梗死),少数病例仅累及心肌的心内膜下层(心内膜下梗死)。

(1)心内膜下心肌梗死 心内膜下心肌梗死(subendocardial myocardial infarction)的特点是坏死主要累及心室壁内层1/3的心肌,并波及肉柱和乳头肌。常表现为多发性小灶状坏死,坏死灶大小为0.5~1.5 cm。病灶分布常不限于某一支冠状动脉的供血范围,而是不规则地分布于左心室四周。最严重的病例,坏死灶扩大融合而成为累及整个心内膜下心肌的坏死,称为环状梗死(circumferential infarction)。患者通常存在三大支冠状动脉严重的狭窄性动脉粥样硬化,但绝大多数既无血栓性,亦无粥瘤性阻塞,说明严重、弥漫的冠状动脉病变是此型心肌梗死发生的前提。当患者由于某种原因(如休克、心动过速、不适当的体力活动)引起冠状动脉供血不足时,可造成各支冠状动脉最远端区域(心内膜下心肌)缺氧,而三大支冠状动脉已陷于严重狭窄,侧支循环几乎不能改善心肌的供血,因而导致心肌坏死,而且是多发性小灶状坏死。

(2)区域性心肌梗死 区域性心肌梗死(regional myocardial infarction)亦称为透壁性心肌梗死(transmural myocardial infarction),为典型的心肌梗死类型。梗死区大小不一,多数为数厘米大小,或更大些。大多位于左心室,且多累及心壁3层组织。此型心肌梗死的部位与闭塞的冠状动脉供血区域一致。由于左冠状动脉病变比右冠状动脉更为常见,所以心肌梗死多发生在左心室。其中左心室前壁、心尖部及室间隔前2/3,约占全部心肌梗死的50%,该区正是左冠状动脉前降支供血区;约25%的心肌梗死发生在左心室后壁、室间隔后1/3及右心室,此乃右冠状动脉供血区,此外见于左心室侧壁,相当于左冠状动脉回旋支供血区域。单纯的右心室心肌梗死极少见。

心肌梗死多属于贫血性梗死，肉眼观，心肌梗死灶形状不规则。一般于梗死6 h后（也有报道12～18 h后）肉眼才能辨认。梗死灶呈苍白色，8～9 h后呈黄色或土黄色，干燥，较硬，失去正常光泽。第4天在梗死灶周边出现明显充血、出血带。2～3周后由于肉芽组织增生而呈红色。5周后梗死灶逐渐被瘢痕组织取代，呈灰白色（陈旧性梗死灶）。

镜下，心肌梗死最常表现为凝固性坏死，心肌细胞胞质嗜伊红性增高，继而核消失。肌原纤维结构可保持较长时间，最终融合成均质红染物。梗死灶边缘可见充血带及中性粒细胞浸润，在该处，可见到心肌细胞肿胀，胞质内出现颗粒状物及不规则横带。另一部分心肌细胞则出现空泡变性，继而肌原纤维及细胞核溶解消失，残留心肌细胞肉膜，仿佛一个空的扩张的肉膜管子，称液化性肌溶解。

以前许多标准的病理学和法医学教科书的作者曾提出，梗死处的横纹消失，但另一些作者则认为横纹仍可能保存。正常心肌的横纹常不易辨认，往往只在一条心肌纤维的某部分，而很少在整条纤维上看到横纹，除非用某种特殊染色（如PTAH）。然而较重的心肌梗死，即使不用特殊染色，也常可见横纹，甚至心肌已完全坏死达数天之久，仍可看到横纹。某些梗死心肌的横纹比正常心肌更清楚。因此，Knight（1980年）指出将横纹消失作为心肌细胞死亡的指征是不足置信的。

当梗死波及内层心肌时，在心内膜下层可保留几条心肌纤维不发生坏死。一般认为是该部心肌可从心腔或心静脉内获取部分氧气和营养物，因而常免于坏死。这种心内膜下心肌保留现象是缺血性心肌坏死的重要特点之一。

一般血管堵塞后形成的心肌梗死灶，其范围都比该血管支配区域为小，在梗死灶周围都留有一层虽然缺血但尚未坏死的心肌，即所谓边缘层。用组织化学方法也证明了这种边缘层的存在。在动物实验中将冠状动脉堵塞后，可看到在缺血心肌的边缘部有一层在生化上不同于缺血中心部的心肌。边缘层心肌虽然已蒙受损伤但仍活着，是处于可逆性阶段的心肌。如果采取有效保护措施，边缘层受损的心肌可以恢复过来，但如果保护不当或无保护措施，则边缘层心肌可发展为坏死，致使梗死灶向周围扩大，而且这种扩大并不必须有新的冠状动脉堵塞。在发生休克使冠脉血流进一步减少，或加重心脏负担使心肌氧需要量增加等情况时，均可使梗死灶向周围扩大。在心肌梗死的早期更容易发生这种心肌梗死灶扩大的趋势，因此，尽早治疗心肌梗死非常重要。

2. 心肌梗死的并发症　透壁性心肌梗死的常见并发症有以下几种。

（1）心脏破裂　心脏破裂是透壁性心肌梗死的严重并发症，较少见，占心肌梗死所致死亡病例的3%～13%。常发生在心肌梗死初期1～3 d或1～2周内，主要由于梗死灶周围中性粒细胞和单核细胞释出的蛋白水解酶以及坏死的心肌自身溶酶体酶使坏死的心肌溶解所致。好发部位为：①左心室前壁下1/3处，心脏破裂后血液流入心包，引起心包填塞而致猝死；②室间隔破裂，左心室血液流入右心室，引起右心功能不全；③左心室乳头肌断裂，引起急性二尖瓣关闭不全，导致急性左心衰竭。

（2）室壁瘤（ventricular aneurysm）　10%～38%的心肌梗死病例合并室壁瘤，可发生于心肌梗死急性期，但更常发生在愈合期。由于梗死区坏死组织或瘢痕组织在室内血液压力作用下，局部组织向外膨出而成。多发生于左心室前壁近心尖处，可引起心功能不全或继发附壁血栓。

（3）附壁血栓形成（mural thrombosis）　多见于左心室。由于梗死区心内膜粗糙，室壁瘤处及心室纤维性颤动时出现涡流等原因，为血栓形成提供了条件。血栓可发生机化，或脱落引起大循环动脉栓塞。

（4）心外膜炎　心肌梗死波及心外膜时，可出现无菌性纤维素性心外膜炎。

（5）心功能不全　梗死的心肌收缩力显著减弱以至丧失，可引起左心、右心或全心充血性心力衰竭，是患者死亡最常见的原因之一。

（6）心源性休克　有人认为，当左心室梗死范围达40%时，心室收缩力极度减弱，心输出量显著减少，即可发生心源性休克，导致患者死亡。左心室的低输出量引起冠状动脉充盈不足，进一步加重心肌缺血，使梗死面积扩大，加重休克的发展，病人可死于不可逆性休克。

(7)机化瘢痕形成 心肌梗死后,若病人仍然存活,则梗死灶被机化修复而成瘢痕。小梗死灶约需2周,大梗死灶4~6周即可机化。

3. 心肌肥大 冠心病患者因心肌长期慢性缺血、缺氧,使左、右心室壁发生肥厚、心肌肥大、心脏重量增加,但一般不超过正常心重的10%。若合并高血压病,则心脏重量明显增加。

4. 心肌间质的病变 心肌间质小血管显著淤血,也可有小灶性出血。有的病例心肌间质纤维增多或间质纤维化,间质小动脉内膜增厚等。

5. 心传导系统的病变 冠心病猝死者心传导系统可检见的病变有:①窦房结、房室结组织出血、梗死或有空泡变性,间质结缔组织增多;②窦房结动脉内膜增厚、内膜下血浆蛋白浸润、粥样斑块形成等,从而使管腔狭窄,影响窦房结的血液供应,导致心律失常。但上述的传导系统病变并非冠心病猝死者所特有。

第三节 冠心病猝死机制

一、心室纤颤

大多数冠心病猝死病例死于急性心肌缺血基础上的心室纤颤。由于冠状动脉粥样硬化病变使心肌供血量减少,发生心肌供氧与需氧的不平衡,心肌缺血,触发心肌电生理改变、心电衰竭,致室性心律失常,特别是室性期前收缩,心室纤颤或致心脏停搏而猝死。有新鲜血栓形成的病例则更易发生急性心肌缺血致心室纤颤而猝死。

二、急性心肌梗死及其并发症

少数冠心病猝死则是由于大片心肌梗死致急性心功能衰竭死亡,或是因心肌梗死后的并发症,如室间隔穿孔、乳头肌断裂而致急性心功能衰竭死亡。若是合并心脏破裂或因室壁瘤破裂,则致急性心包填塞而死亡。

三、冠状动脉痉挛

冠状动脉痉挛是指一支或多支冠状动脉一过性收缩,导致急性心肌缺血的一组临床综合征。程度严重或未经及时有效救治者可发生猝死。存在或不存在冠状动脉粥样硬化均可发生。虽然多年来对冠状动脉痉挛是否引起冠心病猝死的问题还存在争论,但据陈新山等(1991年)报道的128例冠心病猝死中冠状动脉血栓形成仅18例,占14%。故认为,至少有部分冠心病猝死病例是由于冠状动脉痉挛引起。

四、自主神经系统功能障碍

自主神经系统功能障碍与冠心病猝死的关系也是猝死机制中值得研究的问题。部分冠心病猝死者死前并无劳累、情绪激动等诱因,而是于夜晚睡眠中、白天午睡时或休息状态下发生死亡。这类冠心病猝死者的猝死机制可能与自主神经系统功能障碍有关。即睡眠时迷走神经活动占优势、血流缓慢,冠状动脉循环灌注下降,在原有动脉粥样硬化斑块狭窄病变基础上,更易致心肌缺血,从而发生猝死。心率变异性(heart rate variability,HRV)是近20年来日趋成熟的一项无创伤性、定量检测心脏自主神经功能状态的精确方法,它以动态心电图技术测定连续PR间期的变异为基础,计算窦性心率在单位时间内的

变化程度，反映心脏交感－副交感神经的张力及其平衡状态。临床研究发现，HRV 下降与心性猝死的关系极为密切：冠心病猝死者的 HRV 明显低于未发生猝死者及正常人；冠心病患者中，HRV 明显下降者其猝死的相对危险性比未明显下降者高 4.1～5.3 倍。1996 年，欧洲心血管病学会和美国心脏起搏与电生理学会联合发表了专题报告，认为 HRV 下降是猝死的独立危险因素，肯定了 HRV 下降对预测恶性心律失常、猝死的实用价值。

第四节　早期心肌梗死检查方法的进展

在一些早期死亡的心肌梗死病例中，肉眼和镜下检查常看不出心肌有何明显改变，做出心肌梗死的诊断很难。因此，早期心肌梗死的死后诊断一直是法医病理学的重要研究课题。多年来，国内外许多法医和病理学工作者都在努力寻找准确、敏感、实用的诊断早期心肌梗死的方法和指标，包括大体标本染色法、常规 HE 染色、特殊组织学染色、酶组织化学染色、超微结构、生物化学、免疫组织化学、凋亡及分子生物学技术的应用等，从不同方面、不同程度地提高了早期心肌梗死死后诊断的准确性。

一、大体标本染色法

氯化三苯基四唑（2,3,5－triphenyl－tetrazolium chloride，TTC）染色法和硝基蓝四唑（nitro－blue tetrazolium，NBT）染色法仍被认为是显示早期心肌梗死的可取方法。其简便、敏感，据刘世沧（1993 年）在山羊实验性心肌梗死中缺血 4 h 即可肉眼观察到。据张国华（1992 年）研究兔缺血 1 h 用本法即可显示明显的心肌梗死范围。人的心肌缺血 3 h 即可被检出。但结果易受死后自溶的影响，限制了它在法医学实际检案中的应用。

二、常规 HE 染色

1. 心肌嗜酸性变和颗粒变性　心肌组织在缺血、缺氧状态下，有一个从可逆损伤到不可逆损伤的发展过程。早期缺血主要累及心肌细胞胞质，而少累及细胞核。缺血心肌纤维对酸性染料如伊红的亲和性增加，缺血区大片心肌纤维呈嗜伊红染色增强，或称胞质嗜酸性变，可在心肌缺血 6 h 后出现。心肌早期缺血主要表现为胞质嗜酸性变，可见横纹不清，甚至消失，呈红染均质状。如缺血加重，则胞质中出现红染的粗颗粒，称为颗粒变性。此种颗粒系由细胞水肿时线粒体和内质网的肿胀扩张所致。有学者认为这 2 种病变是心肌早期缺血性损害的一种有价值的征象。但实践证明诊断标准掌握不一致，易受人为现象干扰而误诊。通常过度染色可产生假的嗜伊红染色增强，另一些人为的改变是在组织块边缘或在刀痕等不整齐部位、表片皱褶区或破碎区心肌都常出现嗜伊红增强，不应误诊为病变。上述人为的嗜伊红增强，冰冻切片比石蜡切片更为明显。如嗜伊红增强同时伴有肌原纤维肿胀和倾向均质化、横纹模糊或消失、不同程度的细胞核改变、间质毛细血管扩张、红细胞呈串珠状停滞等，则常为缺血所致。

2. 心肌纤维波浪状改变　关于心肌的此种改变，很早就有文献报道。根据波形可分为 3 级：Ⅰ级波，单个心肌细胞纤维呈波形弯曲；Ⅱ级波，心肌纤维成束地平行排列，呈波浪状，但波距小于 0.3 mm；Ⅲ级波，波距在 0.3 mm 以上。但有些学者认为心肌纤维波浪状改变是猝死临终性心肌尸僵表现。而且实践说明，这种波状纤维在各种死亡的心房肌极易观察到，只有在心室壁出现才有意义。此外，应注意与正常的心肌收缩波鉴别。因此，有待积累更多的检验资料进行评价。

3. 心肌收缩带坏死（contraction band necrosis）　收缩带自 1936 年被 Erst 首次在骨骼肌发现以来，以后又在心肌发现，被认为是出现在横纹肌的一种形态改变。心肌的收缩带常在一些缺血心肌中发现，受到病理学家和法医学家的重视。王慧君（1998 年）对不同原因造成的收缩带在法医病理学诊断中的

意义进行了探讨，发现心肌缺血引起的收缩带呈楔状或结节状，灶状分布，同烧死、交通事故、电击死、超生期骨骼肌机械损伤和电损伤等引起的收缩带具有不同的形态学特征。

4. 心肌纤维坏死灶　刘世沧(1993 年)用 10 只山羊做左冠状动脉结扎造成心肌缺血，1 h 后解除结扎，手术后 24 h 处死动物。大切片镜检发现缺血区出现多数性显微镜下坏死灶，用 PTAH 染色显示特别清晰，Masson 和 Van Gieson 染色病灶区只剩下心肌细胞支架组织。这批动物在急性缺血期多数出现心室纤颤，并用除颤器除颤，用普萘洛尔控制室性心动过速，用利多卡因控制室性早搏，纠正了心律紊乱。这一实验研究支持了一些学者的观点：认为多数心源性猝死是由于心室纤颤所致。人类急性心肌缺血 1 h 内死亡者，能否查到显微坏死灶，尚未见报道。

三、特殊组织学染色

心肌细胞因缺血缺氧导致细胞本身的代谢改变。由于中间代谢产物量和质的异常，病变心肌和正常心肌细胞相比，对某些色素显示出不特异的亲和性。主要的特殊染色方法有以下几种。

1. HBFP 法　李灵芝等(1991 年)应用 HBFP 染色法可显示家兔心肌 HE 染色无明显改变的缺血 15 min之心肌病变，呈复红色。阳性着色主要出现在波浪状改变之心肌纤维和 HE 染色呈嗜酸性变之心肌纤维，且随缺血时间延长，呈阳性染色之心肌纤维数量增多，范围扩大。认为本法不受常规组织处理及死后自溶的影响，死后 8 d 的人体检材仍可检出缺血病变。

此方法因固定方法、切片厚度以及分化时间都能影响染色结果，甚至发生假阳性，因为 HBFP 法中苦味酸－丙酮液为强的分化剂，分化时间较难掌握，易出现假阳性或假阴性。有人建议在染色过程中用正常心肌作对照，以此决定分化时间的长短，可防止出现误差。赖跃等(1990 年)认为掌握控制分化时间的关键是各组织块染色、分化时间要一致，且只有强阳性，即较多的心肌纤维染成猩红色，呈灶状分布，结合 HE 染色在排除假阳性基础上可做出早期心肌缺血的诊断。尽管对其可靠性一直有争论，但在法医学应用上，此法具有其他方法不可比拟的优点：①死后 36 h 内不受自溶影响；②缺血 30 min 后便有阳性反应，1 h 内有显著阳性染色，48 h 后才转阴；③可染石蜡包埋切片；④简便快速。张剑敏(1996 年)对冠心病发作 1 h 内死亡的人体心脏组织连续切片，进行酶标免疫组化染色和 HBFP 染色，观察 HBFP 阳性染色的范围分布于肌红蛋白和 α－actinin 脱失的范围内。廖志钢等(1996 年)提出 HBFP 染色分级标准，即全部肌纤维均染黄色为阴性；个别肌纤维部分胞质染成红色，呈点状分布为Ⅰ级阳性；较多心肌纤维染成红色，呈灶状分布为Ⅱ级阳性；大部分心肌纤维染成红色，呈片状分布为Ⅲ级阳性。他们认为Ⅰ级阳性对诊断心肌缺血意义不大。

2. 变色酸 2R 亮绿染色法　李成库(1989 年)采用变色酸 2R 亮绿(chromatrope 2R－brilliant green，C－2R)染色法，对心血管病猝死的尸检心肌和动物材料进行研究表明，C－2R 法能对比鲜明地显示 6 h 内甚至 30 min 的心肌缺血病变，心肌缺血早期病变呈深粉红色，正常心肌和纤维结缔组织呈绿色，红细胞呈橘红色，细胞核呈蓝色，对比鲜明。其操作简便，在可疑急性心肌缺血引起猝死而 HE 未显示出明显病变的案例中，C－2R 法被推选为首选的组织化学染色方法。

3. 磷钨酸苏木素染色法(PTAH)　PTAH 是显示心肌纤维横纹的重要方法，在这种染色中，坏死区的清晰度以及与正常组织的对比，较其他染色为明显，因此，根据横纹的所见比 HE 法易于明确认定是否病变。但此法在判定早期心肌梗死病变的时间上并不比 HE 染色优越。正常肌纤维用 PTAH 染色可显示有规则的横纹。心肌缺血最早的改变是肌肉收缩成分碎裂为小颗粒，呈“沙粒”状。在此早期，肌纤维的背景一部分变清晰，橙红色或黄色的肌浆变得更明显，其中散布着暗蓝色的收缩性物质。“沙粒”状阶段之后，崩裂的肌小节逐渐进一步聚集成较大颗粒。深蓝色或几乎是黑色的收缩性物质凝聚在一起，变为越来越大的质块。最后形成凝聚块，横贯整条肌纤维。

四、酶组织化学技术

许多学者采用酶组织化学方法，通过动物实验，研究急性心肌缺血病变的改变。因正常心肌中含有各种辅酶和脱氢酶，坏死心肌释放入循环血的酶含量的测定很早被临床上用于心肌梗死的早期诊断。在法医学应用方面，先后被研究的酶类已有琥珀酸脱氢酶、β－羟丁酸脱氢酶、细胞色素氧化酶、葡萄糖－糖原转化酶、异柠檬酸脱氢酶以及肌酸激酶等。这些研究的成果对我们了解缺血心肌的变化过程和坏死机制有很大帮助。

张国华（1992年）通过家兔心肌缺血酶组织化学研究发现，家兔心肌缺血60 min便有LDH活性下降，至2～4 h下降显著。SDH于缺血2 h酶活性下降，4 h下降显著，他认为LDH和MDH对心肌缺血损害较SDH敏感。官大威等（1990年）则对犬急性心肌缺血再灌注损伤时心肌SDH的活性变化作了探讨。发现在犬心肌缺血的60 min，特别是90 min后该酶活性降低，当冠状动脉再灌注120 min时此酶的活性降低更为严重。张永亮等（1990年）应用酶组织化学对家兔实验性心肌缺血的早期改变的10种酶进行观察，发现心肌缺血15 min时，糖原磷酸化酶（PPr）、分枝酶（branching enzyme）于缺血区即呈阴性；琥珀酸脱氢酶（SDH）、谷氨酸脱氢酶（GDH）、辅酶Ⅱ黄递酶（NADPHD）、腺苷三磷酸酶（ATPase）、细胞色素氧化酶（CCo）等随缺血时间延长，酶活性逐渐减弱；而单胺氧化酶（MAO）、非特异性酯酶（ANAE）、酸性磷酸酶（ACP）等活性在缺血早期无明显改变。PPr和分枝酶虽在缺血早期即为阴性，但自溶改变对这些酶的影响很大，因此对于早期诊断心肌缺血价值不大。而其他酶（除MAO、ANAE、ACP外）对急性心肌缺血的早期诊断是有意义的。易龙等（1995年）用大鼠做左冠状动脉结扎制作实验性心肌缺血，观察缺血区酶组织化学改变和死后自溶所致酶活性降低对诊断的影响。结果证实心肌缺血1 h后左心室壁的糖原和PPr活性消失，清晰地显示心肌缺血区的大小和形态。其基本病理过程是心肌缺氧导致无氧酵解增强，糖原大量分解，催化糖原分解的PPr亦迅速消耗，因此二者平行迅速消失。并观察到非缺血区心肌内糖原与PPr在死后4 h迅速消失，因此缺乏法医病理学实践意义。缺血区中央带在冠状动脉断流后2 h就可见脱氢酶类、转移酶类（CK）和ATP酶活性轻度下降，缺血4 h，有明显酶活性下降。未缺血区脱氢酶、CK和ATP酶能耐受自溶达24 h，活性未见明显下降，可作为缺血2～4 h的诊断指标，具有法医学实践意义。缺血边缘区脱氢酶活性升高，可能是区域代偿性代谢增高所致，死后自溶对这一区域影响较少，死后48 h染色强度仍无改变，对法医病理学诊断早期心肌缺血有一定意义。CCo、CK、ACP、AKP等酶，由于缺血耐受性强，酶活性下降较晚，在缺血后8 h，已可用其他形态学指标观察判定。还发现在心肌缺血2 h可见到缺血区边缘带有脂肪滴积聚，且耐受死后自溶达24 h以上，在非缺血区经过死后自溶6～48 h未见脂肪积聚，因此，具有法医学实践意义。其发生机制主要是缺血区心肌细胞内的中性脂肪（来源于血循环）氧化障碍，结合脂在细胞内分解和显现，在缺血区的边缘带，渐进性坏死过程吸收了较多的血源性脂质，耐受自溶，故反应明显。

酶组织化学虽有定位准确、显色明显、操作简便等优点，但由于不同学者的研究对象、实验方法不同，对于酶组织化学显示急性心肌缺血的早期改变其结论不尽一致。此外，实际检案中，法医尸检常较晚进行，因此心肌内各种酶活性受死后自溶的影响在所难免，迫切需要寻找一种既能在心肌缺血和早期梗死时失去活性，又对自溶影响不十分敏感的酶，因此这一领域有待进一步深入研究。

五、电镜检查技术

糖原：正常情况下，心肌氧贮备量甚微，故心肌对缺氧极为敏感。当心肌缺血缺氧时，即通过加速糖原的无氧酵解来供应能量，而很快导致糖原减少。心肌缺氧1 min开始心肌细胞糖原减少，缺血40 min后，细胞内糖原完全消失。

线粒体：缺氧 10～20 min 线粒体肿胀，基质密度降低，嵴崩解空泡状。40 min，线粒体内钙盐沉积，出现絮状致密体。缺氧 1 h 后，絮状致密体体积增大，数目增多，1～2 h，多数线粒体膜破裂。

细胞核：缺血 15 min，核染色质聚集成块，且边集（margination）靠近核膜，3～4 h，核膜破裂。

肌原纤维：心肌收缩成分对缺血抵抗力较强，缺血 10～15 min 可见肌原纤维之肌丝彼此分离，部分区域断裂溶解，且 I 带消失，Z 线增粗，肌节收缩，呈收缩带改变；1 h 后，肌节长度不等，收缩带增宽，呈扭曲现象，肌原纤维间出现脂滴；约 4 h 后肌原纤维断裂。

肌膜：缺血 5 h 后出现局灶性肌膜破裂。

闰盘：缺氧 10～30 min，闰盘水肿分离。但在缺血早期看不到这种改变。

Jennings 等（1978 年）把缺血 40 min 时线粒体内出现絮状致密体作为心肌缺血不可逆损伤的标志。张永亮等（1990 年）研究家兔急性心肌缺血并设自溶对照，其实验组结果与上述基本一致，而自溶组早期无明显改变，1 h 后见线粒体肿胀，其基质内出现絮状致密颗粒；4～6 h 后嵴断裂呈空泡变。认为单纯以线粒体内出现絮状致密颗粒作为不可逆损伤的标志是不可靠的，应结合其结构是否破坏。

扫描电镜（SEM）观察急性心肌缺血超微结构病理改变的研究报道较少。汪宏等（1994 年）的研究发现，死后早期自溶与心肌缺血的病变在 SEM 下难以区别，故法医学应用意义不大。

六、生物化学技术

许多学者利用 K^+/Na^+ 比值的测定作为急性心肌梗死死后诊断的一种方法。Zugibe 等（1966 年）用生化方法测定了试验动物和人体缺血心肌的 K^+/Na^+ 比值，发现缺血 10 min 后 K^+/Na^+ 比值便明显下降。此后有 Varga（1988 年）继续研究。Hougen 等（1992 年）研究了 150 例心肌梗死尸检材料中的 K^+/Na^+ 比值，认为左心室前壁、左心室后壁、室间隔 3 个区域的心肌中，如果有 2 个以上的 K^+/Na^+ 比值为 1 或小于 0.7，且心包液中肌红蛋白呈阳性，或 CK－MB 酶活性不低于 CK 酶活性的 15%，亦可视为心肌受损的表现。按此标准，一些形态学和组织化学均不能诊断为心肌梗死的病例中，生化分析提示有心肌缺血性损伤。他认为联合应用形态学、组织学和生物化学的方法，比单纯的形态学和组织学方法在诊断早期心肌缺血中更具价值。但 K^+/Na^+ 比值测定的操作要求较高，要求取材的量和部位精确，并需仔细修剪掉脂肪和结缔组织等，而且一般不能视为缺血心肌的不可复性改变。

钙、硒、锌、铜、铁、钴、锰、钛等离子与冠心病及心肌梗死的关系也引起重视。冠心病及心肌梗死者有铜代谢紊乱现象，其中 Cd^{2+}/Zn^{2+} 与 Zn^{2+}/Cu^{2+} 比值尤其引起重视。冠心病发生率和死亡率和血浆 Zn^{2+}/Cu^{2+} 比值呈正相关。Speich 等（1980 年）将死于心肌梗死的尸体 24 h 内解剖，测定左心室坏死心肌与未坏死心肌的 K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+} 含量，发现坏死心肌内 Mg^{2+}、K^+ 浓度明显下降，而 Ca^{2+} 浓度明显增高，Mg^{2+}/Ca^{2+} 比例出现倒置及 K^+/Na^+ 比例明显减少。德国学者 Oster（1989 年）测定了冠心病患者血液和心脏中硒、锌、铜、铁、镁、钾等元素，结果血清硒、锌、铜离子浓度低于正常，且血清硒与心脏中硒有相关性。国内张耀庠等（1993 年）在急性心肌梗死的动物模型中探讨梗死区心肌 K^+/Na^+、Mg^{2+}/Ca^{2+}、Zn^{2+}/Cu^{2+} 比值的变化与急性心肌梗死发生时间的规律。结果显示：①K^+/Na^+ 比值、Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值随心肌缺血时间的延长呈进行性下降；K^+/Na^+ 比值在 60 min、120 min 实验组与对照组比较有显著差异（$P<0.01$）；②Zn^{2+}/Ca^{2+} 比值各实验组与对照组比较无显著差异（$P>0.05$）；但实验组随缺血时间延长，Zn^{2+}/Cu^{2+} 比值呈下降趋势，120 min 组比 15，30，60 min 组降低约 1/2（$P<0.01$）。他们认为，测定心肌梗死区 K^+/Na^+ 比值、Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值可以作为显示和判断急性心肌梗死的重要指标。刘国树（1994 年）观察到心肌缺血 15 min 再灌注后，心肌结构接近正常，但心肌纤维膜上 Ca^{2+} 分布数量低于正常心肌。缺血 30～45 min 时，心肌细胞的亚细胞结构发生了严重变性，大多数肌纤维膜上 Ca^{2+} 消失，再灌注后大量 Ca^{2+} 以丛状形式沉积于线粒体内，处于不可逆损伤的边缘。缺血 60～75 min 再灌注后，肌纤维膜断裂并完全失去了 Ca^{2+} 的沉积，大而肿胀的线粒体内亦无 Ca^{2+} 的踪迹，代之以絮状物质沉积等

细胞损伤终末阶段征象。

测定心包液中磷酸肌酸激酶及其同工酶(CK－MM、MB、BB)、肌球蛋白(myosin,又称肌凝蛋白)含量有助于早期心肌梗死的死后诊断。如早期心肌梗死,心包液中肌球蛋白增加73.3%,磷酸肌酸激酶及其同工酶均有减少。Osuna E等(1998年)测定心包液和血清中的生化指标并计算其比值,发现心包液与血清中肌球蛋白的比值是反映广泛心肌坏死或肌肉损伤的最佳指标。心肌肌钙蛋白T和I(troponin T,TnT;troponin I,TnI)是一种高度灵敏、高度特异反应心肌损伤的血清标志物,在临床上对急性心肌梗死的诊断、再灌注的观察及预后判定具有重要的应用价值。在正常情况下,TnT在心肌细胞内以结构蛋白和胞质可溶性蛋白2种形式存在,前者占95%,后者占5%。在心肌细胞膜完整的情况下,TnT不能通过细胞膜,故在正常血清中几乎测不到TnT。如果缺血、缺氧造成心肌细胞损伤,胞质内可溶性TnT透过受损的细胞膜首先释放出来;当心肌细胞因缺血、缺氧而发生变性坏死时,TnT可通过破损的细胞膜进入细胞间质,随之进入血管和淋巴管内,故可在急性心肌梗死早期测得TnT。研究表明,在心肌缺血性损伤数小时,肌钙蛋白即可从心肌细胞释放入血,并且持续到7～10 d。因此,当CK－MB已恢复正常时,肌钙蛋白水平仍维持在较高水平,在确定微小心肌梗死时比CK－MB更为特异和敏感。Cina SJ等(1998年)对28例尸检心脏进行血清CK－MB和cTnI(cardiac troponin I)的测定,心脏性猝死案例平均CK－MB含量为857.9 μg/L,cTnI含量为93.4 μg/L;而非心脏性猝死案例CK－MB含量为116.4 μg/L,cTnI含量为16.6 μg/L。心脏性猝死组同非心脏性猝死组相比,二者均有显著差异。且cTnI>40 μg/L仅出现于心脏性猝死案例。表明死后血清cTnT含量增高反映心肌缺血性损害,可用于确定死亡原因,尤其是无明显形态学改变的心律失常致死案例。Osuna E等(1998年)对89例尸体心包液和血清中TnT、Mb、肌球蛋白重链等4种生化指标进行测定,发现急性心肌梗死组同非心性死亡组相比,心包液中4种生化指标均有显著性差异,血清中肌球蛋白重链、Mb有显著性差异。总之,由于TnT是心肌细胞所特有的一种调钙蛋白,具有高度的心肌特异性,与目前其他酶学诊断指标相比,具有下列优点:①血中出现早,有50%的患者在胸痛发作后3 h血中TnT升高,早于CK、CK－MB和LDH;②灵敏度高,正常人血中TnT浓度在1 μg/L以下,急性心肌梗死时,TnT血浓度可超过正常上限的400倍以上,而CK和LDH活性分别不超过正常上限的60和10倍,在非Q波急性心肌梗死者,TnT浓度增加达正常上限的20～30倍,而同期测定的CK和CK－MB增加最高值不超过正常上限的9倍;③特异性高,骨骼肌损伤不影响结果的判断;④持续升高时间长,在心肌损伤后早期入血,并持续数日。

张永亮等(1993年)结扎家兔左冠状动脉前降支,对急性心肌缺血时蛋白质的降解和氨基酸代谢进行了研究。用离子交换色谱法测定缺血心肌组织游离氨基酸(酸性、中性、碱性)以及氨含量,发现缺血时大多数游离氨基酸含量上升,丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和组氨酸含量在缺血15 min即有明显增加,但苏氨酸、谷氨酸和游离氨基酸总量却随缺血时间延长而逐渐下降。丝氨酸含量在缺血早期上升,缺血60～480 min,含量无明显变化。缺血120 min以后,甘氨酸和精氨酸含量逐渐下降。组胺含量在缺血早期上升,晚期下降。游离氨基酸总量、苏氨酸、甘氨酸、精氨酸以及组胺含量的降低是缺血心肌氨基酸代谢的特征性变化。认为测定缺血心肌游离氨基酸及组胺含量有助于急性心肌缺血的早期诊断。

七、免疫组织化学技术

1. 检测黏附和进入心肌细胞内的血浆蛋白成分　主要包括补体、纤维连接蛋白、纤维蛋白原、白蛋白等。

(1)补体　补体是由C1～C9及其调控因子构成的多分子系统,其化学成分为糖蛋白,性质极不稳定。它具有溶血、溶菌作用,并可引起炎症反应。通常以非活动状态存在,当受到激活后,各成分便按一定顺序呈现连锁的酶促反应,产生多种具有生物活性的物质,参与机体免疫防御反应或引起疾病的免疫病理作用,是构成许多病理损害的物质基础。现在普遍认为,补体系统在心肌细胞受损时被激活,补体

参与心肌缺血的整个病变过程。德国学者 Schafer(1986 年)用多克隆、单克隆抗 C5b－9 补体复合物和多克隆抗 C5、C8、C9 等抗体来检测这些成分在人梗死心肌上的沉积,用人梗死心肌活检组织冰冻切片进行 ABC 法染色,并以非心脏病病人的活检心肌作对照。结果发现 C5b－9 选择性地沉积于梗死区心肌细胞膜上,心肌梗死灶中抗 C5b－9 染色最深,C5、C9 染色次之,C8、C3d 染色较淡,C4 为阴性,而正常心肌均为阴性,据此他认为 C5b－9 的免疫组化染色是检测早期心肌梗死的灵敏指标,并指出缺血可导致心肌细胞控制细胞膜上补体水平的能力的丧失,而导致 C5b－9 在细胞膜上沉积,从而引起肌膜功能性失调乃至破裂,导致心肌细胞死亡。Thomsen H 等(1990 年)在人尸检材料常规石蜡切片上,用改良的免疫组化法检测,发现零星和灶性的早期缺血心肌能被抗 C5b－9 补体复合物多克隆抗体标记呈鲜红色,并提出这种方法甚至适用于即刻心脏猝死的案例鉴定。为了探讨 C5b－9 在诊断心肌梗死上的特异性,Thomsen H 等(1994 年,1995 年)以梗死的心肌为阳性对照,用改良的上述方法和抗 C5b－9 多克隆抗体对 67 例非梗死性的直接心脏外伤和其他类型的心肌缺氧性损伤的心肌进行检测。实验分成 2 组:①直接影响心肌的外伤和疾病导致的直接心肌损伤;②系统因素影响整个机体所致的间接心肌损伤。结果显示:非梗死的心肌损伤没有一例在心肌中检出 C5b－9。这是因为补体激活和 C5b－9 复合物形成的数量和时间不足所致。他们观察到缺血 40 min,即有 C5b－9 沉积,指出只有心肌损害局限并存活 40 min 以上者,才能用免疫组化方法检测出 C5b－9;他们还对其实用价值进行了研究,发现在死后自溶与腐败第 11 天,HE 染色已不能显示心肌梗死,但仍可用免疫组化方法显示梗死心肌内 C5b－9,且无假阳性染色。Edston E 等(1995 年)用不同的抗体和免疫组化方法对尸检心肌标本进行 C5b－9 染色,并同传统方法比较,发现 C5b－9 的多克隆抗体比单克隆抗体效果好,碱性磷酸酶抗体桥接法(an antibody－bridge with alkaline phosphatase)优于 ABC 法,钴－镍 DAB 增强法可提高染色强度但背景染色较深,本法效果最差。同传统方法比较,免疫组化法在 97% 的凝固性坏死区和 65% 的收缩带坏死区显示 C5b－9 阳性,而在 C5b－9 阳性区可见到凝固性坏死的只占 44%,可见到收缩带坏死的只占 68%,表明在 HE 染色尚不能显示心肌缺血性损害时,已经可以用 C5b－9 确定缺血损害的心肌细胞。而且可以排除濒死期与人为因素造成的收缩带,因其 C5b－9 染色阴性。胡丙杰等(1999～2001 年)对 C5 诊断早期心肌梗死的价值进行了评价,发现 C5 在大鼠心肌缺血 15 min 即可出现阳性反应,并随缺血时间的延长,其反应面积逐渐增大,因而心肌细胞内 C5 阳性是早期心肌缺血的敏感指标。对人尸检心脏标本的研究发现,C5 仅在心肌梗死与心肌炎病例出现阳性反应,其阳性反应面积同正常对照组存在显著性差异,在窒息、电击死、出血性休克、心挫伤、有机磷中毒等病例未见明显阳性反应。因此,C5 作为心肌梗死死后诊断指标仅受心肌炎的影响,对诊断心肌梗死具有较好的特异性。狗心肌缺血标本在 4℃ 冰箱内放置 2 周,C5 仍呈阳性反应,说明 C5 具有较好的死后稳定性,可用于死后冷冻放置 2 周的尸体。总之,C5 不仅敏感性好,而且特异性强,并具有较好的死后稳定性,是法医学实践中诊断早期心肌梗死的较好指标。

(2)纤维蛋白原、白蛋白　在细胞膜破裂而导致细胞内物质脱失的同时,血浆蛋白质如纤维蛋白原(fibrinogen,Fg)、白蛋白(albumin,Al)、纤维连接蛋白等也可通过损伤的毛细血管进入组织间隙,然后向细胞内扩散。Shekhonin 等(1990 年)用免疫荧光法观察冠状动脉结扎 3 h 之大鼠梗死区心肌,可见纤维蛋白原/纤维蛋白已进入损伤的心肌细胞内。Brinkmann B 等(1993 年)同时应用纤维蛋白原、C5b－9 补体复合物、肌红蛋白、结蛋白的免疫组化技术检测人体标本。实验分 4 组:①肉眼可见梗死组 15 例;②有冠状动脉血栓但无梗死组 11 例;③有阻塞性冠状动脉粥样硬化、管腔狭窄 >75%、无梗死组 9 例;④对照为估计有短暂濒死期的非自然死亡共 13 例。结果:①～④组免疫组化方法的平均反应强度逐渐减弱;结蛋白和肌红蛋白的反应非常相似,肌红蛋白的灵敏性更高;纤维蛋白原和 C5b－9 的反应几乎平等,但纤维蛋白原的敏感性更高。他们认为,对早期心肌梗死和(或)缺血损害的诊断,推荐肌红蛋白和纤维蛋白原的免疫组化染色。胡丙杰等(2000 年)对纤维蛋白原诊断早期心肌梗死的价值进行了评价,发现在大鼠急性心肌缺血 15 min 纤维蛋白原即可出现阳性反应,因而是反映早期心肌梗死的灵敏

的形态学指标。在诊断早期心肌梗死的特异性方面，纤维蛋白原不仅在心肌梗死病例出现阳性反应，而且在心肌炎、窒息、电击死、出血性休克、心挫伤、有机磷中毒等病例也出现明显阳性反应，因此诊断心肌梗死的特异性较差。狗心肌缺血标本在4℃冰箱内放置1周，纤维蛋白原仍呈明显阳性反应，因此其死后稳定性相对较好。

(3)纤维连接蛋白　纤维连接蛋白(fibronectin，Fn)在心肌梗死死后诊断中的作用，近年来颇引人注目。Reimer等(1990年)认为Fn分子质量大，只有在胞膜严重损害时才能通过损害的细胞膜。Casscells等(1990年)在研究大鼠心肌梗死愈合时发现，在结扎冠状动脉4 h后，用免疫组化染色法即可观察到小块状的Fn沉积于梗死区心肌细胞胞质、Z线及一些心肌细胞间隙内。同年Shekhonin等用免疫荧光法做了类似的实验，他们观察到在冠状动脉结扎3 h，梗死心肌细胞内即可出现Fn，其分布不均，如同有横纹的带状，常局限在一个肌节内。Thornell等(1992年)制作猪心肌缺血再灌注损伤模型，用冰冻切片进行Fn的免疫组化PAP法染色，结果在心肌缺血30 min，Fn即可在缺血区个别心肌细胞内出现。随缺血时间延长，Fn阳性范围扩大，强度增强。电镜证实，Fn阳性的心肌细胞呈现出不可逆性细胞损伤的特征。因此他们认为，心肌细胞内Fn出现是心肌细胞发生不可逆性损伤的可靠标志。胡丙杰等(1996年)应用免疫组化LSAB法，对34例尸检心脏标本进行心肌细胞内Fn用于早期心肌梗死死后诊断的研究。其中尸检及组织学证实心肌梗死5例，其心肌细胞内Fn均呈阳性；冠状动脉有硬化或冠状动脉口狭窄的可疑心肌梗死18例，其中15例心肌细胞内Fn阳性。非心性死亡对照组11例，心肌细胞内Fn均呈阴性。表明心肌细胞内Fn免疫组化观察在急性心肌梗死尤其是早期心肌梗死死后诊断上具有重要价值。近年来，胡丙杰等对Fn诊断早期心肌梗死的价值作了进一步研究，发现Fn直到心肌缺血3 h才出现阳性反应，其敏感性不及纤维蛋白原、C5等指标，但仍明显优于HE染色。在特异性方面，Fn仅在心肌梗死与心肌炎病例出现阳性反应，在窒息、电击死、出血性休克、心挫伤、有机磷中毒等病例未见明显阳性反应，因此仅受心肌炎的影响，对诊断心肌梗死具有较好的特异性。狗心肌缺血标本在4℃冰箱内放置4周，Fn仍呈阳性反应。因此，Fn敏感性虽相对较差，但特异性强，死后稳定性最好，对心肌缺血3 h以上死亡者，Fn是非常特异、实用的指标，在法医学实践上具有十分重要的实用价值。在实际应用时，如果免疫组化法显示心肌细胞内Fn阳性，在排除心肌炎后，可证实心肌细胞缺血性损伤，结合案情调查和冠状动脉硬化程度，严格排除其他各种死因后可推断为冠心病猝死。

2. 检测心肌结构蛋白　心肌肌原纤维的结构蛋白包括收缩蛋白——肌凝蛋白(myosin)和肌动蛋白(actin)及调节蛋白——原肌凝蛋白(tropomyosin)和肌钙蛋白(troponin)。通过检测血中的结构蛋白如肌凝蛋白轻链(myosin light chain)、原肌凝蛋白、肌钙蛋白等，临床上逐渐用作诊断急性心肌梗死的指标。HHF35是一种抗肌动蛋白单克隆抗体，它对肌源性抗原具有特异性强、敏感性高的特点。宋一璇等(1994年)用HHF35－ABC法对尸检中早期心肌梗死进行研究，发现20例缺血性心性猝死的心脏均有不同程度的肌动蛋白缺染，而对照组心脏均未见缺染，故认为该法对早期心肌梗死有价值。为了探讨抗肌动蛋白单克隆抗体HHF35在早期心肌梗死死后诊断的敏感性和特异性，胡丙杰等(1998年，1999年)用免疫组织化学S－P法检测了大鼠实验性心肌梗死以及人梗死心肌和其他非梗死性的直接或间接心肌损害的心肌HHF35染色的变化，发现大鼠实验性心肌梗死15 min，肌动蛋白即可在缺血区心肌呈小灶性缺染，说明心肌细胞肌动蛋白的缺失是早期心肌缺血极为敏感的指标。人梗死心肌均可见不同程度的HHF35缺染，其他非梗死性的直接或间接心肌损害的心肌中，如心脏挫伤、心肌炎、出血性休克、电击死、机械性窒息等，也有不同程度的HHF35缺染。因此，应用HHF35免疫组织化学方法诊断早期心肌梗死需慎重。Hansen(1999年)对肌钙蛋白Ⅰ在心肌梗死尸检诊断中的价值进行了评价，发现14例心肌梗死案例均可见肌钙蛋白Ⅰ缺失，24例可疑心肌梗死有23例可见肌钙蛋白Ⅰ缺失，而8例非心脏性死亡对照组无肌钙蛋白Ⅰ缺失，可以作为急性心肌梗死诊断的敏感方法。

3. 检测心肌细胞骨架成分　细胞骨架乃胞质中一组纤维状结构的网架，具有决定细胞形态和牢固性的功能。对心肌细胞骨架研究得较多的是连接蛋白、α－肌动蛋白细丝和结蛋白。Zhang JM等(1996

年)用免疫组化 ABC 法对 14 例冠心病猝死和 13 例非冠心病猝死的心肌标本的 3 种细胞骨架蛋白 vinculin、结蛋白、α－肌动蛋白细丝进行研究,并同肌红蛋白染色比较。结果发现在缺血症状出现 1 h 之后死亡的心肌中 3 种细胞骨架蛋白均有片状和严重的脱失,而在缺血症状出现 1 h 之内死亡的冠心病组心肌内 3 种骨架蛋白的改变同非冠心病组相当。由于细胞骨架蛋白染色背景较浅、特异性染色较强,因而比肌红蛋白染色可靠。胡丙杰等(1998 年)运用免疫组织化学 S－P 法研究大鼠急性心肌缺血模型心肌细胞内结蛋白的缺失情况,发现正常心肌细胞结蛋白呈棕褐色阳性反应,急性心肌缺血 15 min,结蛋白即可在缺血区心肌呈小灶性缺染,随缺血时间延长,其缺染范围逐步扩大。表明心肌细胞结蛋白的缺失是早期心肌缺血极为敏感的指标,免疫组化染色法检测结蛋白的变化可望成为早期心肌缺血死后诊断的一种有意义的手段。胡丙杰等(2000 年)对结蛋白诊断早期心肌梗死的特异性进行了研究,发现结蛋白不仅在心肌梗死病例出现缺失,而且在心肌炎、窒息、电击死、出血性休克、心挫伤、有机磷中毒等病例也出现明显缺失,因此,结蛋白诊断心肌梗死的特异性较差,在法医学实践中应用结蛋白诊断早期心肌梗死应慎重。而且正常心肌组织在 4℃冰箱内放置 3 d 以上也可出现结蛋白明显缺失,因此,结蛋白的稳定性差,易受死后自溶的影响。

4. 检测心肌细胞胞质内蛋白质成分　心肌缺血过程中,肌膜损伤破裂、通透性增加,胞质内的小分子蛋白,如肌红蛋白(myoglobin,Mb)、C－反应蛋白等,即可通过损伤的细胞膜漏出至心肌间质,并进入血液循环。临床上可测定血清 Mb 浓度来诊断早期心肌梗死。而胞质内蛋白质脱失后的心肌,在免疫组化染色时呈缺染状态,可以此来诊断早期心肌缺血。姚季生(1992 年)和官大威等(1992 年)分别研究了 Mb 在动物早期缺血心肌中的脱失,并认为抗 Mb 免疫组化法对早期心肌缺血的病理诊断可靠,具有应用价值。陈新山等(1993 年)用抗 Mb－ABC 法研究了人体冠心病猝死病例与非心源性疾病猝死病例尸检材料,发现 2 组差异显著,认为心肌多发、散在、节段性 Mb 的缺失,可看做是没有大片心肌梗死的冠心病病例的诊断标志之一,且 Mb 的缺失不随死后经历时间延长而增加(不受自溶影响)。胡丙杰等(2000 年)对肌红蛋白诊断早期心肌梗死的价值进行了评价,发现在大鼠急性心肌缺血 15 min 即可出现 Mb 缺失,因而是反映早期心肌梗死的灵敏的形态学指标。但 Mb 不仅在心肌梗死病例出现缺失,而且在心肌炎、窒息、电击死、出血性休克、心挫伤、有机磷中毒等病例也出现明显缺失,因此,Mb 诊断心肌梗死的特异性较差。而且正常心肌组织在 4℃冰箱内放置 3 d 以上也可出现 Mb 明显缺失,说明 Mb 的稳定性差,易受死后自溶的影响。

5. 检测细胞因子及内皮素

(1)血管内皮生长因子　血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)是一种分子质量为 46 u 的二聚体糖蛋白,由 2 个分子质量相同的亚基经二硫键结合而成,是特异作用于血管内皮细胞的强有力的多功能细胞因子。它强烈地特异地促使内皮细胞分裂增殖、增生、转移,增加血管通透性并促进新血管生成,对维持血管的正常状态和完整性具有重要意义。在正常成人心脏心肌细胞中的 VEGF,运用一般方法很难检测,VEGF mRNA 的水平也很低。研究证实,在体内、体外缺血和缺氧都是刺激正常和异常组织产生 VEGF 及其受体的主要诱导因素。Hashimoto 等(1994 年)在体内实验时观察到,当心肌缺血 5～10 min 时,心肌细胞内可出现 VEGF mRNA 表达,直至 30 min 时达到高峰,并且至少可以维持 3 h。Banai S 等(1994 年)在进行心肌细胞体外培养试验中也观察到了类似的结果,他们发现,在体外当心肌细胞缺氧 2～4 h,细胞内 VEGF mRNA 的水平增高了 6～10 倍,而在体内,当心肌缺血时,心肌细胞中的 VEGF mRNA 水平可以增高 3～5 倍。一般认为,血管内皮细胞只是 VEGF 特异性作用的靶细胞,其本身并不表达 VEGF。不过,在缺血缺氧情况下,血管内皮细胞膜上 VEGF 受体可以出现高度表达。Li J 等(1996 年)对大鼠心肌梗死模型血管生长因子 VEGF 及其受体在心肌细胞和血管内皮细胞上的表达进行了研究。他们观察到 VEGF 表达在心肌梗死后 1 h 就显著上升,达到基础值的 2.5 倍,以后 7 d 继续显著上升,一直到 6 周左右降到基础水平。2 种 VEGF 受体的 mRNA 表达也显著增加并持续一段时间,活动趋向与 VEGF 的表达一致。flk－1 受体表达在心肌梗死 1 h 后增加 3.7 倍,

持续增加72 h,一直到7 d左右开始下降,到6周降至正常水平,但flt-1受体表达的时间却与flk-1不一样,直到心肌梗死6 h后才达到高峰。同时他们还观察了VEGF及其受体在梗死心脏不同部位的表达,左冠状动脉结扎后,梗死与非梗死区均有VEGF mRNA表达,不过非梗死区只持续3~7 d时,则下降至正常,而梗死区及其周边部位的高水平表达可持续7 d以上。但是,一旦缺血缺氧,局部血氧供应恢复正常时,局部过度表达的VEGF则迅速下降。一般来说,在24 h以内就会降至正常水平。陈建国等(1998~2000年)运用免疫组织化学方法,对大鼠急性心肌缺血早期的不同时间、心脏不同部位的VEGF进行了研究。结果发现,缺血30 min后在缺血心肌局部开始出现VEGF阳性表达,而缺血边缘区域和正常区域心肌在缺血1 h后也开始出现VEGF阳性表达,并随着缺血时间的延长,VEGF的表达强度也越来越强,3 h达到高峰。对照组未发现有阳性表达结果。同时也对冠心病猝死案例的心脏标本心肌VEGF的表达进行了研究,发现16例冠心病猝死心脏标本心肌梗死局部心肌均有VEGF的阳性表达,尤以心肌梗死灶边缘为甚,阳性表达率为100%;而15例非冠心病猝死对照组心脏标本仅有2例心肌局部散在有VEGF弱阳性表达,其余为阴性;经图像定量分析和统计学处理,冠心病猝死组阳性指数为13.68±2.73,对照组为2.05±0.84,2组结果有极显著性差异,说明VEGF免疫组化染色结合图像定量分析处理方法,可望为冠心病猝死的死后诊断提供一个比较客观的病理形态学依据。

(2)碱性成纤维细胞生长因子　碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor,bFGF)是一种广泛存在于各种正常组织器官中的具有多种生物学功能的一类多肽生长因子,主要刺激多种间质来源和神经外胚层来源的细胞分裂增殖和趋化,对内皮细胞和某些上皮细胞也有作用。有研究发现,bFGF参与心肌缺血与心肌梗死的修复过程中,在心肌缺血时,梗死区周围的心肌细胞、血管内皮细胞和平滑肌细胞中bFGF的含量极高。Fujita M等(1996年)对不稳定型心绞痛患者心包液中bFGF的含量进行了检测,发现有心肌缺血的患者bFGF的含量显著高于无心肌缺血的对照组。Gu JW等(1997年)检测了由于运动诱发心肌缺血患者尿液中的bFGF,其含量明显高于无心肌缺血的患者。他们认为bFGF有可能成为诊断心肌缺血的有用指标。但以上研究均未明确bFGF的来源。陈建国等(1998年)运用免疫组化技术对大鼠急性心肌缺血早期不同时间的心肌不同区域bFGF的动态变化进行了研究,结果发现缺血30 min即可在梗死局部心肌广泛出现bFGF的阳性表达,而且随着缺血时间的延长而持续增强,到缺血3 h时达到高峰,并持续一定时间,之后呈缓慢下降趋势。心肌缺血早期心肌梗死区域bFGF表达高于缺血边缘和正常区域。但随着缺血时间的延长,心肌梗死以外区域bFGF的表达越来越强,到3 h可与梗死区域相当。胡内杰等(2000年)对尸检心脏标本的研究发现,心肌梗死组24例的心肌细胞核及血管内皮细胞核均为强阳性染色,有些细胞质也有阳性染色,尤以心肌梗死灶周围区域心肌细胞为甚。可疑梗死组21例中17例见心肌细胞核及血管内皮细胞核为强阳性染色,4例为弱阳性染色;而正常心脏对照组16例中3例呈弱阳性染色,其余均为阴性。图像分析与统计学处理结果显示,对照组bFGF阳性指数明显低于心肌梗死组和可疑心肌梗死组,而后2组无显著性差异。因此,bFGF的免疫组化染色方法可望为急性心肌缺血的早期诊断提供客观的病理形态学依据。

(3)内皮素　内皮素(endothelin,ET)最先是由日本学者Yanagisawa从培养的猪主动脉内皮细胞上清液中分离纯化出的21个氨基酸残基组成的多肽,是体内作用最强、持续时间最长的缩血管物质。心肌缺血可导致ET的产生增加,且增加越多,梗死面积越大,心功能也越差。血浆ET水平可作为心肌梗死诊断和判断预后的参考指标。马孟云等(2000年)实验发现缺血60 min后,缺血区心肌细胞呈局灶性阳性;缺血120 min后,血管平滑肌、内皮细胞及心肌细胞质均呈阳性着色。而对照组和缺血30 min组心肌组织未见有阳性反应。ET免疫组化法可望成为早期心肌缺血死后诊断的一种新的方法。

八、凋亡检测技术

细胞凋亡(apoptosis)又称细胞程序性死亡,是机体生长发育过程和对外界刺激因素作出反应过程

中的一种现象。现有资料表明，细胞凋亡可由缺血等多种损伤诱导发生，特别是在缺血损伤早期组织损伤处于可逆阶段时。近年来的研究已证明了细胞死亡的2种形式——坏死和凋亡都存在于急性心肌梗死中。Itoh G 等(1995 年)利用原位末端标记方法和 DNA 琼脂糖凝胶电泳技术检测了 19 例急性心肌梗死的心肌组织，结果可见受损的心肌细胞中表现出伴有凋亡生化特征的凝固性坏死。Kajstura J 等(1996 年)采用原位凋亡检测方法，研究了实验大鼠心肌中缺血所致细胞凋亡与梗死面积大小的关系，结果显示凋亡是缺血初始 2～3 h 内细胞死亡最主要的形式，而坏死是随后才发生的。罗斌等(2000 年)应用 DNA 缺口末端标记法(TUNEL)、透射电镜技术观察 20 例冠心病猝死者梗死区心肌细胞凋亡现象，发现冠心病组梗死区心肌细胞凋亡千分率(555.94‰±144.10‰)明显高于正常对照组(34.30‰±20.68‰)，并有趋势表明，冠状动脉粥样硬化病变灶数越多，梗死区心肌细胞凋亡越明显。电镜下见有的心肌细胞出现胞核体积缩小、染色质边集、核膜完整的早期凋亡特征；有的出现染色质更浓密、电子密度明显增加、结构模糊不清、核膜仍完整的中晚期凋亡细胞特征。陈建国等(1999 年)采用 TUNEL 和琼脂糖凝胶电泳对大鼠实验性心肌缺血早期(6 h 内)不同时间缺血损伤区以及人体心脏中心肌细胞凋亡情况进行了研究，结果表明，实验性急性心肌缺血早期检测到的凋亡心肌细胞通常是心肌细胞遭受早期缺血性损伤的结果，将其应用于法医检案中，可望为早期心肌梗死的死后诊断提供新的病理形态学指标。

九、分子生物学技术的应用

在严重冠状动脉粥样硬化的病例以及心肌病和某些心源性猝死的病例的尸检材料中，已有人报道，心肌细胞线粒体 DNA(mtDNA)大量缺失。检测心肌细胞 mtDNA 的缺失有可能揭示心源性猝死的发病机制，并在早期心肌缺血的诊断上有所帮助。Pierre J 等(1994 年)在石蜡包埋的早期心肌缺血组织中检出心肌细胞 mtDNA 的缺失，主要是 4 977nt 的缺失。由于 mtDNA 在正常心肌细胞中的含量远高于病变心肌中 mtDNA 的含量，Pierre J 用缩短 PCR 循环时间并辅以 β－微球蛋白片段(与缺失的 mtDNA 片段长度相似)作对照，使检测达到应有的精度，获初步成功。他认为，既然严重的冠状动脉粥样硬化导致的心肌缺血可用此方法检测，那么就可能在分子水平上阐明冠心病猝死的机制。

胡丙杰等(2000 年)对大鼠实验性心肌缺血早期即早基因 c－fos mRNA 进行原位杂交法检测，发现正常大鼠心肌细胞表达少量 c－fos mRNA；急性心肌缺血 15 min 心肌细胞表达 c－fos mRNA 的阳性反应增强，在心肌缺血后 30 min 时，c－fos mRNA 阳性反应达到最高峰，以后逐步下降。结果表明：c－fos mRNA 的原位杂交检测，可望成为一项灵敏的急性心肌缺血的早期诊断指标。由于心肌缺血时 c－fos mRNA 的增高有一过性的特点，故只适用于 1 h 以内心肌缺血的判断。这为早期心肌梗死的诊断提供了新的思路，但在法医学实践中的应用有待进一步探讨，如其特异性、死后因素的影响等，都尚未解决。

十、心肌缺血再灌注损伤

近年来，早期心肌缺血后的冠脉再灌注损伤问题引起一些学者的注意，有的认为在冠脉痉挛缓解后或血栓形成后，继发纤溶致使冠脉血流再通，有利于心肌损害的恢复，但也有的认为能使原有损害加重。宫大威(1989 年)采用 NBT 染色后的几何重量法(geometrical weight method)测定犬心肌梗死量并进行心肌琥珀酸脱氢酶的光镜和电镜组织化学研究，发现犬急性心肌缺血 60 min 或 90 min 后，冠脉再灌注 120 min均造成心肌梗死范围扩大，即引起再灌注损伤，这对解释冠状动脉痉挛所致的猝死有重要的意义。付晨钟等(1993 年)用 HHF35－ABC 法观察心肌缺血再灌注损伤时肌动蛋白的变化，发现在心肌缺血5 min再灌注30 min后，心外膜下心肌肌动蛋白广泛缺染或染色明显减弱，尤以心前壁最为明显，与正常心肌和血管壁呈鲜明对比。而缺血 5 min 未灌注组未见有肌动蛋白缺染。他们认为该法灵敏度

高，结果准确，为心肌缺血再灌注损伤提供了形态学诊断依据。马孟云等（1999 年）用 32 只 SD 大鼠建立心肌早期缺血再灌注损伤模型，另外 40 只分为正常与缺血对照组，用免疫组化 SABC 法结合图像分析研究心肌细胞核 Fos 蛋白的表及情况，发现缺血 30 min 再灌注30 min后，再灌注区有部分心肌细胞核呈弱阳性着色，以后随缺血时间延长核阳性增强；缺血 90 min 再灌注30 min后核棕褐色染色最强，缺血 180 min再灌注 30 min 后又开始减弱；正常和单纯缺血组心肌细胞核未见有阳性反应；HE 染色无明显病理改变。研究表明，免疫组化法检测心肌细胞核 Fos 蛋白可诊断缺血 30 min 再灌注 30 min 或更长时间的损伤，有望成为急性心肌缺血再灌注死后诊断的一种有意义的手段。王曙光等（2001 年）观察了心肌缺血后不同时间再灌注 HSP70 和 Fos 蛋白在心肌组织表达的改变，发现心肌缺血 15 min 再灌注 30 min后 Fos 蛋白即在缺血区域表达，随着再灌注时间延长，表达增强；非缺血区域 1 h 始有表达，缺血区域表达明显强于非缺血区域；心肌缺血区域再灌注 1 h 后 HSP70 始有表达，随着再灌注时间延长，表达增强，非缺血区域心肌 2 h 始有表达，且明显弱于缺血区域。再灌注早期 HSP70 和 Fos 首先在心肌内层表达，随着时间延长，表达向心肌外层扩展；对照组心肌组织无 Fos 和 HSP70 表达。结果表明，HSP70 和 Fos 蛋白表达有可能为早期心肌缺血/再灌注提供一项新的辅助诊断的形态学指标。

在心肌缺血再灌注损伤中，关于细胞凋亡的研究也引起了学者们极大的兴趣。已有一些动物实验和临床研究显示出心肌缺血再灌注损伤与细胞凋亡有着密切关系。Gottlieb 等（1994 年）在对兔心脏进行缺血再灌注损伤的研究中发现，缺血 30 min 后再灌注 4 h 组出现细胞凋亡，而缺血 5 min 后再灌注 4 h，以及单纯缺血 30 min 或缺血 4 h 则未见心肌细胞凋亡发生，认为心肌细胞凋亡是心肌缺血再灌注损伤的特征之一。但 Fliss H 等（1996 年）对鼠心肌研究则发现，持续阻断冠状动脉，造成心肌单纯缺血，仅 2.25 h，采用 ISEL 法和（或）DNA 电泳即可证实降解 DNA 片段的出现；作为对照，阻断冠状动脉 45 min 后再灌注，则 1 h 后就出现凋亡，但较单纯缺血者凋亡程度低。单纯缺氧和缺血再灌注损伤都可引发活体心肌细胞的凋亡。

总之，随着病理学与分子生物学技术的不断进步，早期心肌梗死及心肌缺血再灌注损伤的死后诊断方法也在取得明显的进展。但如何提高敏感性和特异性，如何在实际检案中克服死后变化的影响及组织处理过程中的影响，仍尚未很好解决。

第五节　冠心病猝死的法医学鉴定

一、尸检注意事项

冠心病猝死病例尸检时除应遵循全面系统解剖的原则，注意检查各个器官组织的病变外，重点应注意心脏及冠状动脉的检查、描述与记录。

1. 心脏的取出　切开心包后用左手倒提起心脏，在各大血管进出心包处剪断主动脉、肺静脉、肺动脉及上、下腔静脉，注意留足血管断端的长度，其中主动脉距瓣膜 5 cm，肺动脉距瓣膜 2 cm，上腔静脉距其入口处 1 cm，取出心脏。

2. 心脏取出后的检查包括以下步骤和内容

（1）心脏外表的观察与测量　观察心脏大小、形状、质地、色泽，有无损伤、出血、梗死、室壁瘤及注射针眼，并称重，触摸质地。心脏正常时同死者右拳大小，扩张肥大时变大，萎缩时变小；心脏若有扩张，心尖变钝；心肌变性、坏死时质地变软。

（2）心脏的剪开方法　一般顺血流方向分 4 步剖开心脏。第一步用剪刀在上下腔静脉口间通过右心房后外侧缘直线剪开；用手指探查三尖瓣口有无狭窄。再用长尖刀从右心房经右房室口伸至右心室尖端，沿右缘切开右心室。第二步用剪刀从右心室尖端开始，沿前室间沟右侧 1 cm 处剪开右心室前壁，

直入肺动脉。第二步剪开2对肺静脉口，探查左心房及二尖瓣有无狭窄等病变，再用长尖刀自左心房经左房室口伸至左心尖端，沿左心缘切开左心房室。第四步用剪刀自左心尖端开始，沿前室间沟左侧1 cm处剪开左心室前壁，直至左心耳右缘，进而剪开主动脉。注意不损伤左冠状动脉的开口、左主干和左前降支近段，以免造成冠状动脉病变定级困难，其切线宜稍向左偏。一般是先对着左心耳根部，然后再转向主动脉方向剪切，形成130°~140°夹角。并同时剪开左、右心耳及切开各乳头肌。

此外，也可用横切法切开心脏，即在冠状沟与心尖的中间作横切一刀的横切面，显露左右心室腔、心室壁、室间隔及前后纵沟中的冠脉血管。然后，在此切面的上下再作多个与之平行的横切面。此法可清楚显露心室腔、左右心室壁和室间隔的厚度，适宜于检查各种心肌病和观察心肌梗死的大小范围。

也有主张只在心尖部作一横切，检查有无心肌梗死和纤维化，然后再顺血流方向切开检查。

(3)心脏剪开后的观察与测量　观察心壁各切面情况，各腔室是否扩张或缩小，乳头肌、肉柱有无改变，主动脉根部有无病变，房间隔、室间隔膜部有无缺损，心腔内有无鸡脂样凝血块或附壁血栓。测量各心瓣膜周径、左右心室壁肌的厚度，若疑有心肌病者，还应测量室间隔厚度。在测量心室壁肌的厚度时，勿将心腔内的肉柱和心外膜的脂肪组织一起计入。

(4)检查心外膜　正常心外膜光滑。当窒息、败血症、血液病等时可见出血点。注意刺创、枪弹创等外伤的形态特征，要与濒死期抢救所致心脏注射针眼相区别。急性炎症时心外膜有浆液、纤维素、血性或脓性物渗出。慢性心包炎时，心包脏、壁2层粘连，增厚，严重时心包腔闭塞，称缩窄性心包炎。注意心外膜脂肪组织厚度及向心肌浸润情况。

(5)检查心肌　正常心肌呈棕红色。心肌脂肪变性则呈黄色，如用苏丹Ⅲ染色，则呈橘红色。新鲜心肌梗死呈黄白色，周围有出血带；陈旧心肌梗死为灰白色瘢痕组织。心肌梗死以左室前壁及室中隔前部较多见，可自心尖至心底作冠状切面，或在近心尖处作水平切面，进行检查，乳头肌也需切开。注意心肌有无肥厚。

(6)观察心内膜　心内膜下出血斑可见于大出血、磷中毒、血液病等。临死前曾做过心脏按摩者亦常见心内膜下广泛出血，应与病理性出血区别。检查各心瓣膜周径、厚度、粘连、赘生物及腱索增粗、缩短的情况。

(7)常规检查冠状动脉　首先观察冠脉开口的部位、数目和大小，有无畸形及狭窄。然后分别自左、右冠状动脉主干开始，沿冠脉主要分支与其纵轴相垂直，以0.2 cm间距作横切。观察各冠脉主要分支分布情况，管壁有无增厚，管腔有无狭窄及其程度，腔内有无栓塞等病变。若有血栓形成，应注意血栓所在的位置、大小及长度，并取材制片镜检。

冠状动脉狭窄程度按占横切面积百分比分为4级，即≤25%为1级、26%~50%为2级，51%~75%为3级、>75%为4级，应以各支病变最严重的部位判断其病变程度。影响准确定级的因素有：斜切，未与冠脉纵轴垂直；冠脉所处状态，如塌陷变扁时易定级偏高，应将凹陷部位所占面积减去或将其恢复圆形状态再定级；斑块形状，如既有偏心斑块又有环形内膜增厚时，不能仅注意其偏心突出的部位而遗漏了增厚不明显的环形部分；误用半径或直径减少的百分比作为狭窄后管腔面积减少的百分比。

(8)检查心传导系统　心传导系统的检查对部分猝死案例非常重要，故必要时应取材检查。心传导系统的取材方法主要有横切和纵切2种。横切法是指与窦房结、房室结的长轴互相垂直的方法，纵切法是指与窦房结、房室结的长轴互相平行的水平切法。2种取材法各有优缺点，横切法容易切取到窦房结，房室结组织，尤其有利于观察血管的病变；纵切法可在同一切片上观察到窦房结，房室结的头、体、尾，大部分结细胞和神经纤维都显示其纵切面，易于观察结细胞的长轴结构，更好地显示其病理改变，但此法不易掌握。

二、冠心病猝死的鉴定要点及其注意事项

由于冠心病猝死的发生率高，多因心室纤颤致心力衰竭死亡，故猝死者冠状动脉和心肌病变的程度不一定很重，加之早期心肌缺血的诊断尚无成熟的检测方法，而且在其他各种原因致死的成人尸检例中，不同程度的冠状动脉粥样硬化又是常见的病变。因此，对冠心病猝死的鉴定应十分慎重。

当死者死前有冠心病史，尤其是死前有典型的心绞痛和（或）心肌缺血或梗死的心电图、心肌酶谱的改变；尸检时检见重度冠心病病变，尤其检见冠状动脉新鲜血栓形成、斑块内显著出血、大面积心肌梗死、梗死后室间隔穿孔、乳头肌断裂、其或心脏破裂者，明确诊断冠心病猝死当无问题。但冠心病猝死中，直接死于心肌梗死的仅占20%左右。

在法医病理学实际工作中，以上情况毕竟少见，大多不能全部获得以上条件。此时对冠心病猝死的鉴定仍提倡采用排除法。①首先通过全面系统的尸检，包括必要的理化检验和毒物化验，结合案情调查及现场勘查，排除各种暴力性死亡，尤其是扼死、电击、中毒、病理形态学改变不明显的心、脑机械性损伤死（如心脏挫伤、脑干损伤等）；②排除其他可能遗漏的自然疾病引起的猝死，如病毒性心肌炎、病毒性脑炎等；③冠状动脉至少有一支或一处粥样硬化斑块病变达Ⅱ级以上；④死前症状、体征和死亡经过符合冠心病的临床表现和猝死特点。如果完全符合以上4点，可明确鉴定为冠心病猝死。否则只能做出非肯定性的、推断性的结论。例如，尽管只有Ⅰ级或Ⅱ级冠状动脉狭窄，如果应用免疫组化法显示心肌细胞内Fn阳性、Mb缺失等，证实心肌缺血，通过案情调查，严格排除其他各种死因后可推断为冠心病猝死。

遇有死因竞争或2种情况同时存在时，应注意区别先后、主次、因果、直接或间接等关系，鉴定何为主要死因、何为次要死因、辅助死因或诱因等。尤其当案情和（或）现场提示有暴力死可能时，冠心病猝死的鉴定尤应慎重。因为通过尸检排除暴力死，一般不可能完全做到。一些智力型犯罪分子可能采用十分隐蔽的杀人手段，使我们由于这样或那样的原因而误诊或漏诊。如既有损伤又有冠心病时，显著且能致命的机械性损伤可能是真正的死因，尽管有时冠心病的病变程度很重。当损伤显著轻微，冠心病病变达到致死的程度，则要分析损伤与冠心病发作的时间关系，如伤后很快发作，该损伤可视为冠心病猝死的诱因；若损伤本身轻微又无其他并发症，且伤后较长时间冠心病才发作，如超过1 d，则很难将损伤与冠心病发作和死亡联系在一起，可以说冠心病猝死与损伤无关；当损伤和冠心病病变的程度均较重时，这时鉴定相当困难，可能是两者共同作用导致了死亡。一般来说，如果损伤出血较多或导致血压显著下降，则不仅容易促使冠心病急性发作，而且在死亡发生上也起作用。若既有中毒情况又检出冠心病时，则应对毒物进行定性定量检查，确定是否中毒致死。若同一病例在不同器官组织检出多种病变，则应综合分析，审慎考虑。在排除其他死因的情况下，对重要器官的严重可致死的病变，应优先考虑为死亡原因。

此外，由于人工呼吸或心脏按摩常导致胸壁及心脏挫伤，混淆病理诊断，应注意死者临终期有无心肺复苏措施，排除医源性干扰。

参 考 文 献

1 邓仲端. 心血管疾病. 见：董都主编. 病理学. 北京：人民卫生出版社，1998. 323～334

2 胡丙杰. 早期心肌梗死死后诊断的进展. 见：侯一平，刘世沧主编. 法医学进展与实践（第二卷）. 成都：成都科技大学出版社，1999. 1～12

3 孙慧宽. 心肌缺血在猝死鉴定中的意义. 见：侯一平，刘世沧主编. 法医学进展与实践（第二卷）. 成都：成都科技大学出版社，1999. 13～17

4 贾静涛. 世界法医学与法科学史. 北京:科学出版社,2000. 585~594
5 Hirsch CS, Adams VI. Sudden and unexpected death from natural causes in adults. In:Spitz WU. Spitz and Fisher's medicolegal investigation of death. 3 rd ed. Springfield:Charles C Thomas Publisher,1993. 137~174
6 易龙,刘世沧. 实验性大鼠急性心肌缺血的酶组织化学观察. 中国法医学杂志,1995,10(2):68~71
7 王慧君,武忠弼. 几种不同形态特点的"收缩带"在法医病理学诊断中的意义. 法医学杂志,1998,14(3):132~134
8 汪宏,刘世沧,董培正,等. 实验性大鼠急性心肌缺血的组织化学和扫描电镜观察. 中国法医学杂志,1994,9(4):200~202
9 张永亮,李灵芝,孙慧宽,等. 急性心肌缺血的早期病理学变化及诊断方法. 中国法医学杂志,1993,8(3):190~193
10 刘世沧. 心脏性猝死的法医病理学. 见:翟建安主编. 中国法医实践. 北京:警官教育出版社,1993. 73~91
11 徐英含. 最新法医病理学. 北京:世界图书出版公司,1996. 455~466
12 李福金,秦启生. 早期心肌缺血病理诊断技术新进展. 法医学杂志,1997,13(2):104~107
13 张耀库,邵同先,赵立法,等. 实验性急性心肌梗死心肌 K^+/Na^+,Mg^{2+}/Ca^{2+},Zn^{2+}/Cu^{2+} 比值变化研究. 中国法医学杂志,1993,8(3):143~145
14 刘国树. 心肌不同缺血阶段超微结构改变及 Ca^{2+} 分布特点. 中华病理学杂志,1994,23(2):115~117
15 Osuna E, Perez C, Vieira DN, *et al*. Distribution of biochemical markers in biologic fluids:application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction. Am J Forensic Med Pathol,1998,19(2):123~128
16 Mair J, Morandell D, Genser N, *et al*. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. Clin Chem,1995,41(9):1 266~1 272
17 Hamm CW. New serum markers for acute myocardial infarction. N Engl J Med,1994,331(9):607~608
18 Osuna E, Perez C, Alvarez MV, *et al*. Cardiac troponin I (cTnI) and the postmortem diagnosis of myocardial infarction. Int J Legal Med,1998,111(4):173~176
19 Cina SJ, Li DJ, Chan DW, *et al*. Serum concentrations of cardiac troponin I in sudden death:a pilot study. Am J Forensic Med Pathol,1998,19(4):324~328
20 张永亮,吴家敏,李灵芝,等. 心肌氨基酸代谢与早期急性心肌缺血的关系. 中国法医学杂志,1993,8(2):83~86
21 Thomsen H, Held H. Immunohistoche mical detection of C5b-9(m) in myocardium: an aid in distinguishing infarction-induced ischemic heart muscle necrosis from other forms of lethal myocardial injury. Forensic Sci Int,1995,71(2):87~95
22 Thomsen H, Held H. Susceptibility of C5b-9(m) to postmortem changes. Int J Legal Med,1994,106(6):291~293
23 Edston E, Kawa K. Immunohistochemical detection of early myocardial infarction. An evaluation of antibodies against the terminal complement complex(C5b-9). Int J Legal Med,1995,108(1):27~30
24 胡丙杰,陈玉川,祝家镇,等. 实验性早期心肌缺血补体 C5 的免疫组织化学研究. 中国法医学杂志,2000,15(4):197~199
25 胡丙杰,陈玉川,祝家镇,等. 补体 C5 在心肌梗死死后诊断的特异性研究. 法医学杂志,2001,17(1):7~9

26 Brinkmann B, Sepulchre MA, Fechner G. The application of selected histochemical and immunohistochemical markers and procedures to the diagnosis of early myocardial damage. Int J Legal Med, 1993, 106 (3): 135 ~ 141

27 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 实验性早期心肌梗死纤维蛋白原的免疫组化研究. 广东公安科技，2000，增刊：75 ~ 78

28 Hu BJ, Zhu JZ, Chen YC. Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction. Forensic Sci Int, 1996, 78(3): 209 ~ 217

29 胡丙杰，陈玉川，祝家镇. 早期心肌梗死心肌细胞内纤维连接蛋白的免疫组化观察. 中国法医学杂志，1996，11(1)：14 ~ 17

30 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 纤维连接蛋白诊断心肌梗死的死后稳定性研究. 中国法医学杂志，2000，15(增刊)：7 ~ 9

31 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 纤维连接蛋白在诊断心肌梗死的特异性研究. 中国法医学杂志，2001，16(1)：23 ~ 25

32 Hansen SH, Rossen K. Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction. Forensic Sci Int, 1999, 99(3): 189 ~ 196

33 宋一璇，付晨钟，祝家镇，等. 抗肌动蛋白单克隆抗体在早期心肌缺血诊断中的应用. 中国法医学杂志，1994，9(3)：131 ~ 133

34 胡丙杰，陈玉川，李杰，等. 实验性早期心肌缺血肌动蛋白的免疫组织化学研究. 广东公安科技，1998，4：70 ~ 72

35 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 对抗肌动蛋白单克隆抗体诊断早期心肌梗死的评价. 法医学杂志，1999，15(3)：138 ~ 139

36 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 实验性早期心肌缺血结蛋白的免疫组织化学研究. 法律与医学杂志，1998，5(4)：148 ~ 150

37 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 结蛋白诊断早期心肌梗死的特异性研究. 法律与医学杂志，2000，7(4)：145 ~ 148

38 Zhang JM, Riddick L. Cytoskeleton immunohistochemical study of early ischemic myocardium. Forensic Sci Int, 1996, 80(3): 229 ~ 238

39 胡丙杰，陈玉川，祝家镇，等. 肌红蛋白诊断早期心肌梗死的特异性研究. 法律与医学杂志，2000，7(1)：4 ~ 8

40 Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, *et al*. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. Am J Pathol, 1995, 146(5): 1 029 ~ 1 039

41 Waltenberger J, Mayr U, Pentz S, *et al*. Functional upregulation of the vascular endothelial growth factor receptor KDR by hypoxia. Circulation, 1996, 94(7): 1 647 ~ 1 654

42 Hashimoto E, Ogita T, Nakaoka T, *et al*. Rapid induction of vascular endothelial growth factor expression by transient ischemia in the rat heart. Am J Physiol, 1994, 267(5 Pt 2): H1 948 ~ H1 954

43 Banai S, Shweiki D, Pinson A, *et al*. Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischemia: implications for coronary angiogenesis. Cardiovasc Res, 1994, 28(8): 1 176~1 179

44 Li J, Brown LF, Hibberd MG, *et al*. VEGF, flk - 1 and flt - 1 expression in a rat myocardial infarction model of angiogenesis. Am J Physiol, 1996, 270(5 Pt 2): H1 803 ~ H1 811

45 Gu JW, Adair TH. Hypoxia - induced expression of VEGF is reversible in myocardial vascular smooth muscle cells. Am J Physiol, 1997, 273(2 Pt 2): H628 ~ H633

46 陈建国,赵连旭,徐小虎,等.急性心肌缺血早期血管内皮生长因子的免疫组织化学实验.中国法医学杂志,1998,13(4):213~215

47 陈建国,徐小虎.VEGF与缺血性心脏病及其在法医学的应用.法律与医学杂志,1999,6(1):27~29

48 陈建国,徐小虎,姚青松,等.VEGF免疫组化染色在冠心病猝死诊断中的应用.法医学杂志,2000,16(1):6~7

49 Cohen MV, Vernon J, Yaghdjian V, *et al*. Longitudinal changes in myocardial basic fibroblast growth factor (FGF-2) activity following coronary artery ligation in the dog. J Mol Cell Cardiol, 1994, 26(5): 683~690

50 Fujita M, Ikemoto M, Kishishita M, *et al*. Elevated basic fibroblast growth factor in pericardial fluid of patients with unstable angina. Circulation, 1996, 94(4): 610~613

51 Gu JW, Santiago D, Olowe Y, *et al*. Basic fibroblast growth factor as a biochemical marker of exercise-induced ischemia. Circulation, 1997, 95(5): 1 165~1 168

52 陈建国,徐小虎,赵连旭,等.急性心肌缺血早期碱性成纤维细胞生长因子的免疫组化研究.法医学杂志,1998,14(2):71~73

53 胡丙杰,陈建国,徐小虎,等.早期心肌梗死bFGF的免疫组化研究.法医学杂志,2000,16(4):205~207

54 马孟云,徐小虎,罗斌,等.大鼠心肌早期缺血内皮素的表达.法医学杂志,2000,16(3):141~142

55 Itoh C, Tamura J, Suzuki M, *et al*. DNA fragmentation of human infarcted myocardial cells demonstrated by the nick end labeling method and DNA agarose gel electrophoresis. Am J Pathol, 1995, 146(6): 1 325~1 331

56 Kajstura J, Cheng W, Reiss K, *et al*. Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. Lab Invest, 1996, 74(1): 86~107

57 Bardales RH, Hailey LS, Xie SS, *et al*. In situ apoptosis assay for the detection of early acute myocardial infarction. Am J Pathol, 1996, 149(3): 821~829

58 罗斌,马中富,罗质人,等.冠心病心肌细胞凋亡的研究.中国法医学杂志,2000,15(增刊):18~20

59 Pierre J, Guy Nicolas, Dominique Lecomte. Detection of the 4977 base pair mitochondrial DNA deletion in paraffin-embedded heart tissue using the polymerase chain reaction—A new method to probe sudden death molecular mechanisms? J Forensic Sci, 1994, 39(3): 693~698

60 胡丙杰,陈玉川,祝家镇,等.实验性早期心肌缺血c-fos-mRNA原位杂交研究.中国法医学杂志,2000,15(3):133~135

61 Fu C, Song Y, Zhu J, *et al*. Immunocytochemical study with anti-muscle actin antibody (HHF35) on myocardial ischemia and reperfusion injury in rats. Forensic Sci Int, 1993, 59(1): 25~34

62 马孟云,徐小虎,陈玉川,等.大鼠心肌急性缺血再灌注Fos蛋白表达及其意义.中山医科大学学报,1999,20(4):272~275

63 王曙光,徐小虎,陈玉川,等.急性心肌缺血/再灌注HSP70和Fos蛋白的表达及其法医病理学意义.中山医科大学学报,2001,22(2):116~118

64 Gottlieb RA, Buelcson KO, Kloner RA, *et al*. Reperfusion injury induce apoptosis in rabbit cardiomyocytes. J Clin Invest, 1994, 94(4): 1 621~1 628

65 Fliss H, Gattinger D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. Circ Res, 1996, 79(5): 949~956

66 Stein PK, Bosner MS, Kleiger RE, *et al*. Heart rate variability: a measure of cardiac autonomic tone. Am Heart J, 1994, 127(5): 1 376~1 381

67 Algra A, Tijssen JG, Roelandt SR, *et al*. Heart rate variability from 24 hour electrocardiography and the 2 year risk for sudden death. Circulation, 1993, 88(1): 180 ~ 185

68 Malik M. Task force of the European society of cardiology and the North American society of pacing and electrophysiology. Heart rate variability, standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Circulation, 1996, 93(5): 1 043 ~ 1 065

69 张益鹄主编. 简明实用法医学. 北京: 人民军医出版社, 1999. 247 ~ 261

第十二章 心脏传导系统增龄变化、病变与猝死

罗 斌 宋一璇

第一节 概述

心脏传导系统(cardiac conducting system,简称 CCS)是由窦房结(sino - atrial node,SAN)、房室结(atrioventricular node,AVN)、房室束(又称希氏束 His bundle,HB)、左右束支(left and right bundle branches,LBB 及 RBB)及其末梢(浦肯野细胞)等部分构成。其功能是产生并传导冲动,维持心脏收缩的正常节律,使心房肌与心室肌的收缩互相协调。

一、心脏传导系统研究简史

1845 年波兰 Breslau 大学,Parkinje(浦肯野)教授在研究羊的心脏组织结构时发现心内膜有一种体积较大的细胞,通过生理实验,认为是心脏运动装置。1893 年 Wilhelm His Sr 及 Tr 父子俩(均为解剖学教授)在解剖多个小鼠、狗及人的心脏后,发现心房→心室有一条纤维束,其分支末梢至 Purkinje 细胞。His 认为该束是由心房延伸到心室,后来称为 His 束(又称房室束)。1906 年德国 Aschoff 研究中心的 Tawara 在多年潜心研究房室结的基础上,绘制出正确描述房室结在心脏的位置、形态特征的彩图。伦敦医院附属医学院 Keith 教授于 1907 年发表研究论文,证实右心房与上腔静脉交界处的一堆细胞为窦房结,它与迷走神经、交感神经联系密切,并有特殊血液供应,与心脏有节律跳动相关。1910 年伦敦医院附属医学院实验室的 Lewis 对狗的心脏的电生理活动进行探测,发现心跳起搏点就在窦房结所处位置,确定 SAN 为心脏的主导起搏点。至此,心脏传导系统的结构基本弄清楚了。

二、心脏传导系统的形态学特征

1. 心脏传导系统的新型染色法 心脏的传导系统是由特殊分化的心肌细胞(又称结细胞,包括起搏细胞——pacemaker cell、移行细胞)和间质(胶原纤维、弹力纤维、网状纤维、脂肪组织等)组成。过

去，采用 HE 染色（照片图 12－1）、胶原纤维的 Masson 染色及弹力纤维 Verhoeff 染色法分别对同一组织进行染色观察，费时费力，浪费检材。现在把改良的 Masson 三色法和 Verhoeff 弹力纤维染色法相结合来研究心传导系统和心血管形态学，该方法有以下特点：①简便快捷，色彩鲜艳，组织结构分明，并维持较长时间不褪色；②在一张玻片上能同时显示结细胞、工作心肌及胶原纤维、弹力纤维等。起搏细胞及移行细胞呈淡红色，体积较为细小，弯曲状；普通工作心肌呈深红色，大而粗。胶原纤维呈绿色，构成间质的主要支架；弹力纤维呈黑褐色，纤细弯曲，不规则分布（照片图 12－2）。作者采用 2 μm 厚切片（过去文献均为 4～5 μm 厚切片），因切片薄，细胞之间不重叠，染色效果好，组织结构分明，细胞胞质可见清晰的横纹（在 HE 染色中，结细胞横纹不清晰）；起搏细胞紧靠动脉（窦房结动脉、房室结动脉）成层排列。随年龄递增，结细胞逐渐稀疏，而胶原纤维、脂肪组织等间质增多，呈现增龄性生理变化。

心脏传导系统新型染色法（详见本章后附录）

2. 心脏传导系统的形态学特征

（1）窦房结（SAN） SAN 位于上腔静脉根部与右心房、右心耳相连处的界沟内，呈狭长的梭形、半月形或马蹄形，大小为 15 mm × 5 mm × 1.5 mm。分头、体、尾三部分，“头”部多在右心耳嵴右侧 2～4 mm的心外膜下面，深不到 1 mm 处，“尾”部深在右心房之内膜下。偶有 SAN 骑跨于右心耳嵴，内有一动脉沿长轴贯穿 SAN，称 SAN 中央动脉，呈波浪状行走（照片图 12－3）。在成人，它相当于大头针尖粗细，系确定 SAN 方位之标志。Sokotov（1990 年）认为 SAN 大多数为单支动脉供应，所以比有多支动脉供应的 AVN、His 束更易受损，SAN 中央动脉多发自右冠状动脉。据 1530 例中国人统计，SAN 中央动脉发自右冠状动脉占 66.76%，发自左冠状动脉 31.90%，发自左右 2 支者占 1.34%。

SAN 是由特殊的心肌细胞（即结细胞、含起搏细胞、移行细胞）和结缔组织（胶原纤维、弹力纤维、网状纤维和脂肪组织）构成，SAN 结细胞沿 SAN 中央动脉成层排列，结与周围组织有较清楚界限。两者之间常有一空隙，细胞交织成网，在 SAN 中央动脉周围，围绕血管成层排列。起搏细胞（pacemaker cell，P 细胞）是心肌兴奋的主导点，多位于 SAN 中心部，细胞小而短，纵切面呈短梭形，横切面呈椭圆形，略有弯曲，个别稍长，横径 4～7 μm，胞质染色淡，有横纹。核大，呈卵圆形，核横径与细胞横径比例为 0.68（正常心肌细胞为 0.37）。移行细胞（transition cell，T 细胞）位于 SAN 边缘部，亦可见于结中央动脉及心房肌内，形态介于起搏细胞和心房肌细胞之间，含有较多肌原纤维。其主要功能是将 SAN 的冲动传递给心房的工作心肌或 Purkinje 细胞。间质：是由致密的胶原纤维、少量弹力纤维、网状纤维构成支架（照片图 12－4）。

电镜下：SAN 中 P 细胞占大多数，移行细胞较少，P 细胞常集合成群，平行排列。2 种细胞内线粒体丰富，嵴多。P 细胞富含糖原，膜下池内含丰富的离子（如 Ca^{2+}）、心钠素等物质，推测其与 P 细胞在离子流作用下产生自律性起搏有密切关系。P 细胞、移行细胞有中间形式，但量极少。P 细胞与移行细胞的主要区别在于前者肌丝束排列不规则，无完整肌节。P 细胞环绕密布结内之毛细血管，细胞巢外层细胞与血管紧贴，形成保障 SAN 血液供给的特殊结构。神经末梢与 P 细胞、成纤维细胞板状突、血管三者之间紧密相邻，但不见 P 细胞与神经末梢直接接触。

（2）房室结（AVN） AVN 位于右房间隔底部之心内膜深面，即冠状窦口前缘、卵圆窝下缘及室间隔膜部后缘构成的三角区内，呈扁长形，约 6 mm × 3 mm × 1 mm。其上为右心房，下为中心纤维体（central fiber body，CFB），也分头、体、尾三部分。“头”端居后侧，“尾”部位于前侧，尾部延伸即为房室束（照片图 12－5）。AVN 动脉来自右冠状动脉的占 93.1%，来自左冠状动脉的仅占 6.9%。与 SAN 比较，AVN 的微循环受周围组织的压迫较重，容易造成 AVN 缺血，但 AVN 的微血管结构具有明显的括约装置，通过毛细血管后微静脉平滑肌的舒缩，可以调节 AVN 的血液供应及回流。

AVN 结细胞呈团状排列，较致密，其中常见 AVN 动脉。AVN 主要由移行细胞、少量 P 细胞和一些间质构成。结细胞短小，着色浅（相对于心房肌的深红色而言），相互交织成网状，形似迷路，易于辨认（照片图 12－6）。部分可见 AVN 尾端呈舌状伸入中心纤维体。

(3)房室束及左、右束支(HB 及 LBB、RBB)　HB 是 AVN 的延续，穿过中心纤维体经室间隔膜部后下缘向前，至室间隔肌部顶端，然后骑跨于室间隔顶部。

HB 周围有纤维组织包裹似岛状，呈卵圆形(近侧端，照片图 12－7)或三角形(远侧端，照片图 12－8)，与邻近心肌分界较清。在室间隔肌部上缘分为左、右两束支。LBB 沿室间隔左侧心内膜下走行，其起始部纤细而长，终末是浦肯野细胞。RBB 是 HB 主干的延续，多先进入室间隔内，后到达右侧心内膜下。因 RBB 束细胞与普通心肌相似，故显微镜下不易识别。

三、心脏传导系统(CCS)的取材方法

研究心脏传导系统形态学变化，首先务必解决的问题是准确、简便切取到传导组织。因此，国内外学者对心脏传导系统取材方法极为重视。

以前的方法是在传导组织解剖范围内共取 10 余块组织，各蜡块连续切片数百上千张，切片经 HE 染色，并加特殊染色镜检。这种方法工作量大，难以常规开展 CCS 检查。

宋一璇、罗斌等自 1989 年开始对 CCS 进行系列研究，采用各种方法切取 500 多例心脏标本并予以比较，在前人基础上建立了心脏传导系统纵切取材法，后又演变出一种横切取材法。所谓纵切法，即与 SAN、AVN 的长轴平行取材制作切片的方法；横切法，即与 SAN、AVN 的长轴相垂直取材制作切片的方法。这 2 种取材方法由于定位标志明显，故均能准确切取到心传导组织，且工作量较传统取材法大为减少，可作为 CCS 常规检查。

纵切法：①组织学显示结细胞围绕结动脉成层排列，细胞(起搏细胞及移行细胞)较工作心肌体积小，略弯曲，HE 染色胞质色淡，排列致密，与周围组织分界清；②纵切可在一张玻片上观察到 AVN、SAN 的全貌，便于进行形态学分析；③对操作技术要求较高。

横切法：①因 SAN、AVN 长轴与横轴之比为 3～5 倍，选用横切法，较易切取到传导组织；②镜下显示的特殊心肌细胞为横断面，不易进行形态学观察。本法多用于观察沿 AVN、SAN 长轴走行的结动脉之病变。

每种方法各具其优缺点。若研究心传导系统的形态学最好采用纵切取材法，而研究冠心病窦房结、房室结动脉病变时则选用横切法为佳。

1. 一般检查　心脏标本先称重量，按血流方向依次剪开右心房→右心室→左心房→左心室；并测量左、右心室肌厚度，各瓣膜周径。在各心腔内放入少量棉球，便于保持原形。10% 中性福尔马林液固定 4～12 h 取材。

2. 纵切取材法

(1)窦房结　以上腔静脉(SVC)、右心房(RA)、右心耳嵴(RAA)及界沟(▲▲)所示为 SAN 的定位标志。①以右心耳嵴为起点，平行于上腔静脉切第一刀；②沿界沟下缘 0.3 cm 与其平行切第二刀；③与第一刀平行，向后左方移动 1.5～2 cm 切第三刀；④平行于第二刀，上移 0.7 cm 切第四刀(照片图 12－9)。切取一长条状组织块，沿纵轴平分成两小块，相向包埋(以大头针或切一小缺口指示包埋面)(照片图 12－10)。

(2)房室结　AVN 的定位标志有卵圆窝(FO)、冠状窦口(CS)、室间隔膜部(MS)及三尖瓣隔侧瓣(TV)。①沿膜部后缘纵切第一刀；②沿卵圆窝下缘与膜部顶端的连线切第二刀；③沿冠状窦口下缘与膜部底端下移 0.5 cm 的连线切第三刀；④沿冠状窦口前缘距第一刀 1.2～1.8 cm 并与之平行切第四刀(照片图 12－11 左)。切取一类正方形组织块，按等分水平切 2 刀(照片图 12－12 左)。上面第一块以下缘为包埋面，下面 2 块则以其中线为包埋面，相向包埋(照片图 12－13)。

(3)房室束及左、右束支　主要以室间隔膜部为定位标志。①将切 AVN 第一刀(膜部后缘)下延；②沿膜部前缘，与第一刀平行切第二刀；③平膜部顶端横切第三刀；④与第三刀平行，下移 1.5～1.8 cm

切第四刀(照片图 12－11 右)。切取一宽约 0.5 cm 长条状组织(照片图 12－12 右)。沿中线平分成两小块,以靠膜部后缘为包埋面,按同一方向包埋(照片图 12－14)。

(4)固定、切片、染色　将切取的各组织块(共 7 块),认准其包埋面,再置 10% 中性福尔马林液固定 12～20 h,常规切片,每个蜡块隔 50 μm 切一片,厚 4～5 μm,捞取 5 张盖玻片,每例心传导组织共切 35 张片。HE 染色,部分进行 Masson 染色、Verhoeff 弹力纤维染色及网状纤维银染法,光学显微镜下观察。

3. 横切取材法

(1)窦房结　方法基本与纵切法一样。将切取的长条状组织,横断均分成 4～5 小块,按同一方向包埋(照片图 12－15)。

(2)房室结　将切取的类似正方形组织块,纵切 2 刀均分成三小块,按同一方向包埋(照片图 12－16 左)同纵切取材法。

(3)房室束(照片图 12－16 右)　同纵切材法。

第二节　心脏传导系统的增龄性变化

心脏传导系统结构、功能的改变与年龄增加、人体衰老的关系非常密切。关于 CCS 形态学研究,已成为临床医学、法医学和病理学研究的重要课题。研究 CCS 增龄性生理变化,可避免与 CCS 退行性改变、纤维化或严重脂肪浸润等病理改变相混淆。

一、SAN 形态学改变与年龄变化的关系

Lev M(1954 年)观察 53 例(4 个月胎儿～90 岁)不同年龄人之 SAN 的形态学变化,发现:胎儿期 SAN 结细胞排成小丛状,间质极少,仅见少量成纤维细胞及纤细的胶原纤维,未见弹力纤维。出生后,胶原纤维增加呈小片状。5 岁时,结周边部开始出现脂肪组织。20 岁左右 SAN 大小几乎恒定,胶原纤维、弹力纤维明显增加,网状纤维清晰显示。30 岁时脂肪组织向结中央浸润。之后随年龄增加,间质逐渐增多而特殊分化的心肌细胞慢慢减少。超过 60 岁,间质变化不明显。Inoue S 用电镜观察 4 个年龄组(20～80 岁)共 28 例 SAN 微环境改变与年龄的关系,发现随年龄增加结细胞直径变大而数量减少。Buruljanowa J 发现随年龄增加,结缔组织成分增加,且 SAN 变化较 AVN 明显。在 60 岁以上组,与 10 岁以下组相比,SAN 内结缔组织含量高 120%,AVN 高 90%。且年龄与 SAN 结缔组织含量的相关系数为 0.65,而 AVN 仅为 0.53。Chandrasiri 检验 75 例法医尸解案例之 CCS,观察 SAN:24% 见胶原组织增生,42% 有脂肪浸润。SAN 脂肪浸润最早见于 30～33 岁男性。年龄大于 60 岁,SAN 出现严重脂肪浸润和胶原组织增生,房室束纤维化导致房室传导阻滞。总的趋势是年龄老化,主质细胞减少,而间质增多,CCS 功能减退。Shiraishi I(1992 年)率先应用彩色图像分析系统对 26 例(3 个月～89 岁)生前无明显心律失常者进行定量分析。结果显示:SAN 体积小于 1 岁为(3.94 ± 0.48) mm^3;1～15 岁为(8.59 ± 2.01) mm^3;16～50 岁为(16.68 ± 2.56) mm^3;大于 50 岁为(13.10 ± 1.85) mm^3。SAN 结细胞体积:小于 1 岁为(1.50 ± 0.16) μm^3;1～15 岁为(2.45 ± 0.33) μm^3;16～50 岁为(3.55 ± 0.45) μm^3;大于 50 岁为(2.17 ± 0.49) μm^3。各年龄组经统计学分析($P < 0.01$)均有高度显著性差异,提出在 50 岁之前,SAN 体积及结细胞占其体积比例的均数随年龄增加而变大。50 岁以后,则减少。推测 SAN 功能衰退在老年人增快。细胞荧光光度计测定 SAN 细胞内的 DNA 倍型恒量,表示 SAN 细胞在生长期并不合成 DNA。

罗斌等对 106 例无心血管疾患之人体心脏标本进行图像分析研究发现,SAN 纵切最大面积与年龄之间的关系呈正态曲线关系。在 20 岁之前,SAN 及其结细胞体积随年龄增加而变大,结缔组织(胶原纤维、弹力纤维、脂肪组织)也逐渐增加。20～40 岁,SAN 纵切面积为最大,达 11.208 0～11.408 4 mm^2。40 岁以后,则结细胞减少,间质脂肪组织及胶原纤维增多,呈现增龄性生理变化。

二、AVN、HB 形态学改变与年龄变化的关系

相对 SAN 而言，研究 AVN、HB 形态学改变与年龄变化的资料较少。Erikson 等(1952 年)发现胎儿 AVN、HB 由紧密排列的上皮样细胞构成，胚胎 5～6 个月时，HB 的细胞平行排列；胚胎 7 个月时，AVN 结细胞交织成网状，在胎儿有少量胶原纤维形成细网，45 岁后明显增加；胎儿 AVN、HB 及其束支弹力纤维含量稀少，出生后开始增加，老年人弹力纤维非常丰富；30 岁，脂肪开始浸润到 AVN 内，50 岁时结内脂肪浸润更加显著，并可侵犯 HB 和左右束支起始部。李玉林(1986 年)观察到：20 岁时 AVN 内开始出现脂肪细胞，以后渐增。30 岁后 HB 及左右束支也有脂肪侵入；并发现 59 岁以下组与 60 岁以上组之间脂肪组织的含量有显著差异。宋一璇发现脂肪最早出现于一例 18 岁女性的 AVN 内，脂肪浸润发生年龄与 Erikson 报告相同，但纤维化一般 60 岁才出现。Davies MJ 发现老年人 AVN 由于大量脂肪组织的沉积，使 T 细胞与周围普通心肌失去联系，可能是老年人 AVN 发生传导阻滞的原因。

岁斌等发现在同一年龄组，SAN 动脉的血管内径较 AVN、HB 供血动脉之内径粗大；管壁厚度基本上是随年龄增长而逐渐变厚；各年龄组 SAN 结细胞直径最小，P 细胞数量最多，与年龄变化密切相关。

值得注意的是，人体 CCS 中年龄相关的变化难以把握，因为个体差异较大，而且在传导系统不同部位间质出现的早晚和程度亦有不同。

第三节 心脏传导系统病理变化与猝死的关系

猝死在法医案例中较为常见，以前没有常规检查 CCS，无疑会有漏诊。Lie 和 Titus 等人提出对急性冠心病死亡或死因不明、青壮年急死综合征的尸解案例，如不检查心传导系统，则是不够全面的，不认真的。美国著名病理学家 Bharati S(1984 年)通过多年 CCS 形态学研究，提出 CCS 结构异常包括两方面：①CCS组织结构增龄性变化，即随年龄的增加，其主质细胞逐渐减少，而间质逐渐增多；②CCS 病变包括炎症、出血、损伤等，他还认为两者均可引起心律失常而致猝死。James Green(1969 年)报道一家三代儿童(5 人)急死，认为造成急死的原因是心传导系统家族性发育不全，引起心律失常所致。Pederson(1980 年)、邱近明和张月梅等人报道，冠心病可累及 SAN 结动脉，其严重狭窄或痉挛可引起结细胞变性、坏死或严重功能障碍。实验中闭塞鼠之 SAN 动脉可引起窦性心动过缓，随之心脏停搏。亦有研究表明，缺血性心脏病、先天性心手术后、心导管术损伤等均可引起 CCS 纤维化、脂肪增多。James(1983 年)、宋一璇等的研究表明，SAN 增龄性变化与神经调节有关。SAN 结周神经节细胞变性，神经纤维肿胀、崩解，神经节炎或退行性变，可导致 SAN 起搏功能减弱或不足，产生严重心律失常而猝死。Harold(1988 年)观察到心肌营养不良、心肌炎累及心脏时，CCS 除有淋巴细胞浸润外，尚可见明显纤维化和脂肪浸润。12 例中 4 例因传导阻滞而猝死。舛田博文(1990 年)在 46 例尸解案例中对未找到死因的 10 例进行 CCS 检查，认为有 8 例猝死系因 CCS 病变引起，其中脂肪浸润 5 例，AVN 动脉严重狭窄 2 例及心内膜下左束支出血 1 例。Lev M、Davies 等报道随年龄增长(20 岁以上)，间质成分增多，以胶原纤维为主，结细胞数量逐渐减少，认为这些改变与血液供应减少有关。宋一璇(1993 年)等检查了 51 例无心外原因猝死者的心传导系统，认为其中 15 例(29%)猝死系由 CCS 病变所致，这些病变有炎症、出血、脂肪浸润、纤维化、神经病变、SAN 及 AVN 结动脉壁增厚、结构变异和淋巴细胞聚集等。James 报道 1 例心脏纤维瘤压迫 CCS 而致猝死。Saraoja、Rossi 等许多学者认为 CCS 病理改变是引起猝死的重要原因。

心脏传导系统病变主要有出血、炎症、脂肪浸润、纤维化、神经病变、肿瘤和发育异常等。由于其先天性结构异常，或原发性、继发性病变，或心神经系统调节障碍，均可干扰心脏的正常节律，使临床上出现某些综合征(病态窦房结综合征)、心律失常和异常心电图，甚至引起心源性猝死(sudden cardiac death)。当然这些病变要达到一定程度以后才会引起猝死。猝死者男性多于女性，并常有晕厥和心律

失常病史。大多在工作、睡眠或轻微刺激(争吵、扭打)中猝死,因而易引发纠纷。

一、影响心脏传导系统的出血

心传导系统出血常见于右心耳与界沟处、心房室前交叉点处或房、室间隔心内膜下。出血的原因很多,从出血机制上分两大类:①血管通透性增高性出血。如缺氧、中毒、感染等致血管通透性增高,产生漏出性或渗出性出血。姚青松报道了4例心传导系统出血致猝死案例,而且猝死者均伴有间质性肺炎,推测出血系病毒感染使血管内皮细胞损伤所致。此时引起血管通透性升高的原发病在猝死中的作用,不可忽视。②血管破裂性出血。可见于血管机械性损伤、血管栓塞、血管炎及小动脉瘤等,病变结果使管壁破坏、破裂出血。作者在实际检案中发现2例室间隔上部局限性新鲜出血,并累及房室结和His束近侧段。1例42岁的驾驶员因交通事故,胸部撞击方向盘致胸骨骨折、心脏挫伤;另1例为23岁民工被人拳击胸部致心脏挫伤,突然身体发软倒在地上,随即死亡。尸体解剖除心脏外未找到致死原因,认为该2例猝死与房室传导系统出血有关,其出血原因系钝性外力作用,心脏震荡牵扯上下腔静脉根部(牵扯性损伤),或心脏撞击胸骨体,引起小血管破裂所致。出血通常好发生在房室结头侧房室连接区,该处富含脂肪组织,毛细血管丰富,组织疏松,一旦发生出血,易引起大量出血,并累及房室连接区传导心肌及分布其周围的神经,因而导致猝死。

1. 病理变化　大体常见靠近右心耳嵴顶的界沟、心房室前交叉点处大片出血或房、室间隔心内膜下出血(照片图12-17)。镜下:窦房结、房室连接区、房室束或左、右束支的结、束组织内有出血,甚至形成血肿。出血区常伴炎细胞浸润、肌纤维颗粒变性,受累神经受压、崩解或被红细胞分割破坏。

2. 猝死机制　心传导系统组织出血,引起局部起搏细胞或传导细胞功能障碍,结、束间传导阻滞;累及神经束,使之受压、变性,造成传导阻滞与调节心脏的神经功能失调。两者均可导致心动过速、过缓等心律失常,或两者兼有而突然死亡。

二、影响心脏传导系统的炎症

炎症是心传导系统病变致猝死最常见原因。宋一璇等研究观察54例心传导系统病变致猝死案例,病变以CCS炎症最多见(46.2%)。心传导系统炎常伴发于心肌炎、心包膜炎和心内膜炎,炎症仅侵犯心传导系统者极为少见。

1. 发病机制　①窦房结炎:窦房结炎常来自心包膜炎。窦房结位于右心房心外膜下,头部距心外膜<1 mm。心外膜炎时,炎症很容易从心外膜向下蔓延,侵犯窦房结及其周围神经组织。②房室传导系统炎:房室传导系统包括房室结、房室束和左右束支。由于房室束远段位于心内膜下,与二尖瓣、主动脉瓣及二尖瓣相邻,当上述瓣膜或其邻近心内膜有炎症时,炎症从心内膜面向下蔓延,可累及与其相邻的房室束,并沿房室传导系统的解剖学自然通路,向上到达房室束近侧段、房室结。向下延及左、右束支,引起房室传导系统炎,严重者可延至右心房,甚至窦房结。③全心传导系统炎:具有起搏传导作用的特殊心肌也是心肌的组成部分,故心肌炎症病变侵犯普通工作心肌的同时,也可累及特殊心肌。作者曾遇1起医疗纠纷案,一13岁男生上体育课不慎被铅球砸伤脚趾而入住某省医院,在滴注抗生素时突然出现紫绀、抽搐,迅即死亡,经尸解发现有心肌炎并广泛累及SAN、AVN和HB。而诊疗护理上未发现差错,故认为其死亡原因系心肌炎伴全心传导系统炎症而致猝死。

2. 病理变化　肉眼观,见心脏呈现一般心外膜炎、心肌炎及心内膜炎的表现。镜下观,心传导系统组织病变分为一般性炎症和特殊性炎症2种。一般性急性炎症表现为结、束实质细胞水泡变性,颗粒变性、脂肪变性、凝固性坏死或液化性坏死。间质充血、水肿。中性粒细胞、淋巴细胞(照片图12-18)、单核细胞浸润。慢性炎症见到有淋巴细胞、浆细胞浸润,纤维组织增生及瘢痕灶形成。特殊性炎症多是风

湿性炎症。出现传导组织水肿、淋巴细胞和浆细胞浸润，间质胶原纤维发生纤维素样坏死，并可见有典型风湿小结。但心传导系统其他部位不易见风湿性肉芽肿形成，仅呈一般急性炎症改变。

3. 猝死机制 传导系统炎症引起猝死并不少见，主要机制为：①起搏功能障碍：炎症使传导组织结、束细胞变性、坏死，甚至数量减少，易诱发完全性房室传导阻滞，或产生折返激动，导致心律失常而猝死；②窦房结及其周围神经炎，神经节细胞空泡变性、坏死，神经纤维崩解以及炎细胞浸润，引起心脏神经病（cardioneurosis）。

三、心脏传导系统脂肪浸润

心传导系统的脂肪增多分生理性和病理性2种。正常人心传导系统随着年龄增长而脂肪组织逐渐增多，称生理性脂肪增多。而超龄性过量增多称为病理性脂肪浸润（照片图12-19）。作者对106例中国人心脏传导系统窦房结间质与年龄进行半定量分析，认为40岁以前，脂肪组织超过SAN总面积的10%应视为脂肪浸润。40岁后，若超越一个年龄组段（10岁）以上应视为病理性脂肪浸润。房室束和左束支脂肪浸润也是以40岁为分界，而房室结则以30岁为分界。

心传导系统病理性脂肪浸润的病因、发病机制尚不清楚。可能有2种原因：①脂肪代谢障碍，例如一个21岁女民工，突然死于拥挤的车厢内，其房室束脂肪浸润达50%；②填充性脂肪组织增生，如一例52岁工人生前有心律失常多年，临床诊断冠心病，某天突然在车间死亡，尸检见房室结慢性炎症，结细胞明显减少，代之以脂肪组织，并有房室束严重脂肪浸润，但冠状动脉未见明显粥样硬化。

1. 病理变化 脂肪组织从窦房结、房室结外周或沿动脉侵入结内，大量结细胞萎缩并被脂肪组织代替，严重时，窦房结外周大部、甚至全部为脂肪浸润，窦房结与心房肌之间的连接纤维大量中断、缺失，或见窦房结被脂肪组织分割呈岛状结构。当窦房结严重脂肪浸润时，窦房结呈蜂窝状结构（HE染色时，脂滴因酒精脱水丢失而呈空泡状）。房室传导系统严重脂肪浸润者，表现为大量脂肪组织侵入房室结内侧带，或者房室束、束支在某一段内大部分传导组织被脂肪组织代替，或呈广泛节段性脂肪浸润，致使大量束细胞中断或束细胞数量减少。

2. 猝死机制 严重脂肪浸润，可破坏窦房结、房室结结细胞之间的衔接和冲动的传递。窦房结、房室结的结周广泛脂肪浸润，则可使结内、外连接中断，冲动传导障碍。两者均可致心动过缓、房室纤颤及传导阻滞而猝死。

四、心脏传导系统纤维化

心传导系统的纤维组织含量与脂肪组织一样具有生理性变化，即随着年龄增长而逐渐增多，若过早、过多地发生纤维化，则属病理性变化。

心传导系统的病理性纤维化原因很多，机制复杂，可归纳为以下几种：①超龄性纤维化，胡小领观察到冠心病病人常过早发生纤维化（Ⅰ型胶原纤维为主），认为与传导组织缺血、缺氧有关。②传导系统本身或其附近组织受破坏，修复性瘢痕形成（如炎症、手术后瘢痕以及一切修复过程）所致。作者解剖一41岁男性尸体，心脏重达480 g，二尖瓣安装金属瓣环，镜下见HB及LBB严重纤维化。据调查，死者13年前因风湿性心脏病做换瓣术，近5年心电图示左右束支重度传导阻滞，到香港旅游的第二天深夜猝死于酒店。③传导系统组织受牵拉、压迫性萎缩，导致纤维化（如右心房扩张、肿瘤、中心纤维体扩大）。④房室结、束发育异常，实质与间质的比例失调，纤维组织过多。⑤原因不明的纤维化，如原发性双侧束支纤维化、心肌病。1983年Bharati S曾报道1例16岁男孩的病史，11个月时因有舒张期杂音而做心导管检查，发现有室间隔缺损。6岁时杂音消失。13岁时再次做心导管检查见缺损部已关闭。14岁起患有心动过缓，16岁时猝死。尸检证实室间隔缺损已自发关闭。组织学检查，见房室结内、外明显

纤维化，房室束被纤维组织分隔，靠近室间隔缺损修复处的左束支起始段被增生纤维组织破坏，右束支也有纤维化。他认为房室传导系统的广泛纤维化是导致心动过缓和猝死的原因。

1. 病理变化　镜检见窦房结、房室结内有灶性或块状，甚至片状纤维组织增生、分布不均，结细胞减少。房室束被纤维组织分割成数束，甚至肌纤维被纤维组织代替、中断。束支起始段或是某区域，或是广泛节段性纤维化（照片图 12－20）。

2. 猝死机制　与脂肪浸润相类似。纤维组织过多使传导心肌连接中断，特别是房室束和左右束支的纤维化，导致心动过缓或房室传导阻滞而猝死。

五、心脏传导系统神经病

本病为 1983 年 James 首先命名，他将心内神经和（或）神经节出现炎症或退行性变称为心脏神经病，这些人中有些发生猝死。钟玉田等（2000 年）报道 1 例高坠致心传导系统出血，见 SAN、AVN 及结周神经组织均被血液浸润，红细胞分割破坏，压迫神经，有的尚见神经纤维崩解。1996 年作者等报道 1 例胃癌，经淋巴道逆行转移到窦房结致猝死者，其结内有的神经被癌细胞浸润破坏。此外，尚有心脏转移性恶性组织细胞瘤、晚期淋巴细胞白血病者，瘤细胞浸润窦房结周神经节和神经。综上所述，神经病变虽性质、类型不同，但病变本质相近似，宜统称心脏神经病。

1. 病理变化　神经节细胞空泡变性、核固缩、坏死，神经纤维崩解，淋巴细胞、中性粒细胞浸润，或是肿瘤细胞浸润，或是红细胞分割及压迫神经、神经节。

2. 猝死机制　心功能受神经、体液调节。病变的心内交感、副交感神经丛，通过神经、体液作用，改变心脏的节律、传导或复极化等功能，诱发心律失常而死亡。

六、心脏传导系统肿瘤

心传导系统原发性肿瘤虽少见，但心脏肿瘤，无论是原发性或继发性，恶性或良性均可侵及或压迫传导系统，即使肿瘤很小，都可导致猝死。作者对无心外原因猝死者 149 例及死于非心脏疾病者 737 例做组织学检查，发现 13 例心脏传导系统有肿瘤，占 1.35%。累及心传导系统的良性肿瘤 10 例，主要为纤维瘤、血管瘤、心房间隔脂肪瘤样肥厚、房室结间皮瘤和横纹肌瘤，其中 8 例位于 SAN 和 AVN。累及传导系统的转移性恶性肿瘤 3 例，转移瘤全部累及 SAN。13 例中 3 例引起猝死。

1. 转移瘤　心脏继发性肿瘤远比原发性肿瘤多见。二者的发病率在（10～20）:1 之间。最常见是肺癌和晚期癌瘤全身性转移，其次是恶性淋巴瘤、白血病和恶性组织细胞瘤。多侵犯右心房，累及窦房结及其周围心脏神经，也可累及房室结和房室束。临床上显示异常心电图。

病理变化：转移瘤大者肉眼上见右心房界沟附近有单个结节形成，或是右房、心室多个小结节散布。结节切面灰白色，无包膜。小者需显微镜下方可见到。肿瘤由大小不等、形态不一、核明显异形性及有核分裂相的瘤细胞构成。转移癌细胞呈巢索状、腺管状排列，转移肉瘤多呈单个浸润灶。窦房结受破坏时，常伴有结内、外神经节或神经浸润，即呈现心脏神经病。

2. 压迫房室束的纤维瘤　本瘤并非真性肿瘤而属瘤样病变，可发生于任何年龄。1973 年 James 首先报道 1 例，猝死者（男，40 岁）室间隔膜部明显增厚，并于下缘向外长出一纤维瘤，大小为 4 mm × 3 mm，把室间隔肌顶部的房室束推压到右侧。该例虽无生前心电图资料，但经尸体解剖后没找到能解释其死因的损伤或疾病，而认定是肿瘤压迫房室束，使其功能异常而突发致死性心律失常。由此而命名为“压迫房室束的纤维瘤”。该瘤与可手术切除的心壁纤维瘤有所不同，后者直径在 1 cm 以上，好发于青少年，临床上主要是出现充血性心力衰竭、心室血液流出障碍等。

病理变化：镜下肿瘤由致密纤维组织构成。肿瘤从室间隔膜部下缘，或室间隔肌顶部胶原纤维团向

房室束分叉部长出，挤压房室束，致使其移位、变形。房室束，甚至束支起始段受压部束细胞呈现萎缩及纤维化。

3. 房室结间皮瘤　又称房室结多囊瘤，是一良性肿瘤。胚胎期心脏原基的心肌外膜环绕心内皮管，并发生环状收缩，此时一部分体腔上皮细胞被挟进房室交接处房间隔内，以后这些细胞增生而形成肿瘤。早期，Fenoglio 根据电镜下见瘤细胞表面有许多间隔宽的微绒毛，细胞间有紧密连接和桥粒，囊腔内有 PAS 染色阳性物质，认为具有间皮特征而命名“间皮瘤”。近年来，Burke 发现排列成小管状、癌胚抗原阳性的瘤细胞中，掺有嗜银的神经内分泌细胞，认为本瘤来自内皮而不是间皮。作者对一死于交通事故的 8 岁男孩的心脏进行常规检查时发现，AVN 入口处有一 4.8 mm × 2.9 mm × 1.6 mm 间皮瘤。该瘤可发生于任何年龄，无包膜，可随年龄增长而逐渐增大，并浸润、破坏房室结，生长缓慢。临床上出现进行性加重的传导阻滞。猝死以青少年为多（照片图 12 - 21）。

病理变化：肿瘤位于房室结区内或附近，右房间隔下部可见稍隆起小结节或略增厚。镜下：肿瘤由实性细胞巢、索和大小囊、腺腔构成。瘤细胞有扁平细胞、基底细胞及透明细胞。囊、腺腔被覆一层或多层立方至扁平上皮。腔内有嗜伊红物质、脱落上皮、吞噬细胞及钙化小体。瘤细胞核小，多位中央，不见核分裂相。瘤巢间富含玻璃样变之胶原纤维。肿瘤无包膜，在房室结内浸润性生长并延及房室束近侧段。房室结组织严重减少，结构破坏。

4. 心横纹肌瘤　实际上是一种先天性畸形，而非真性肿瘤。故又称结节性糖原浸润、Purkinje 细胞瘤、先天性糖原瘤。37%～57% 病例伴有脑的结节性硬化，另见伴发肾、肺错构瘤，有学者称之为心脏的错构瘤。多见于新生儿和乳儿，3 岁以上少见，文献报道年龄最大者是 35 岁。姚青松等报道 1 例 18 岁民工，在与他人争吵中突然死亡，后认为其系因心脏多发性横纹肌瘤累及房室系统而致猝死。临床上常见患儿出生之后或生后不久有心律失常症状，并逐渐加重，直至药物难以控制，而最后死于充血性心力衰竭。

病理变化：肿瘤位于心房、心室的心内膜下，尤以室间隔部多见。瘤结多发，大小不一，大者在心内膜面突起小结节，小者仅显微镜下方能看到。瘤结切面灰白色、微黄色或棕色，无包膜。镜下：肿瘤位于心内膜下，与周围受压心肌有明显分界。瘤细胞体积大，胞浆空泡化，PAS 染色显示富含糖原颗粒（需酒精固定）。核偏位，不见核分裂相。可找到具有诊断意义的蜘蛛细胞，即核位于中央，核周有少量胞浆与外周一些放射状肌原纤维相连的细胞。瘤结可位于心传导系统组织的内、外或受其压迫变形。

猝死机制：以上所述各种肿瘤的猝死机制可综合为：①瘤结压迫心传导系统组织，其结果或是受压部组织产生压迫性萎缩、纤维化，引起房室传导阻滞或阵发性心动过速；或是导致受压部功能障碍；②肿瘤浸润性生长，取代起搏、传导组织，破坏正常房室传导通路，造成致死性心律失常；③肿瘤侵犯心脏神经，致使神经调节障碍，在某种诱因作用下，发生难以自我调控的心律失常而猝死。

七、心脏传导系统发育异常

姚青松等对 886 例心传导系统形态变异研究发现，正常人 SAN、AVN 及 HB 可有一定程度的外形、大小、位置及年龄性改变，称为变异。超出正常变异范围的形态学改变称为发育异常，包括发育障碍和结构异常 2 类。发育障碍包括窦房结、房室结、房室束、左束支和右束支发育不良或缺如；房室结位置不正常和房室束房室结化等。结构异常指在正常的传导通路外，尚有传导附加束，如 Kent 附加束、James 纤维和 Mahaim 纤维。上述附加束可见于婴儿、儿童，成年后应消失。具有心传导系统附加束者，临床上出现心室预激综合征（又称房室异常传导），心电图特点是 P - R 间期缩短、QRS 波形异常。心传导系统变异对心脏功能几乎无影响，而发育异常可致心性猝死。一 37 岁电工早晨 7:30 交班时应了同事一声后即倒在值班室，按常规 CCS 取材未检见 AVN，尔后扩大取材范围，发现 AVN 位于中心纤维体内较深处，呈胎儿期形态。该人平素体健，在排除其他死因后，认为系 AVN 发育异常导致猝死。

1. 病理变化　发育障碍的形态学表现常见有如下几种：①传导系统的结、束细胞与间质比例、分布异常；②体积过小；③房室结移位到中心纤维体内，或房室结细胞移位到房室束和（或）束支起始段；④房室束房室结化，此时见房室结缺如，房室束由移行细胞模拟成房室结结构的组织代替；⑤成年人房室结呈胎儿期形态。房室结相当一部分组织伸展于中心纤维体内较深处，呈大小不等的岛状，其结细胞发生固缩性坏死，岛间有结缔组织连接（照片图 12－22）；也可见移位在中心纤维体内的房室结组织发生同样病理变化。结构异常的附加纤维束，除有的 Mahaim 纤维由 Purkinje 细胞束构成外，其余与普通心肌难以区别，需做连续切片认定。

2. 猝死机制　传导组织发育不良，特别是某结、束缺如时，使传导通路功能障碍或中断，发生不完全性、甚至完全性传导阻滞而猝死。附加束是在正常解剖学的心传导系统通道外，另加一条传导通道。从心房来的激动，可通过附加束通道，比正常房室传导更早地引起一部分或全部心室肌的除极，使心脏处于预激状态。在某种诱因（激动、用力）作用下，使处于心电不稳和预激状态的心传导系统产生激动折返，导致心动过速或室颤而猝死。

八、其他

肥厚型心肌病死亡原因有 2 种：一是血流动力学的改变，临床上出现充血性心力衰竭；另一种是病变累及心传导系统，在情绪激动等因素作用下，亦可诱发致死性心律失常而死亡。

心传导系统病变与猝死关系较为复杂。一些因心律失常猝死者，其心传导系统检查不一定都有形态学的改变，反之，有形态学改变不一定都被认定是死亡原因。而且大多数情况下，法医缺乏临床心电图等资料。如一个 8 岁男孩，患有房室结间皮瘤，却在一起交通意外中，因重度颅脑损伤死亡。因此，在作法医学鉴定中必须严格遵循以下的鉴定原则：①排除可致死亡的暴力损伤、中毒等因素；②心外其他脏器未发现致死性病理改变；③除心传导系统病变外，心脏未检见病变；④心传导系统和心脏均有病变，但前者比后者更为严重；⑤心传导系统的病理改变，足以解释其死亡原因。

附录：心脏传导系统新型染色法

1. 试剂配制

（1）Ⅰ液（Verhoeff 染液）　a. 三氯化铁 2.0 g 溶于 100 ml 蒸馏水中；b. 碘 2.0 g＋碘化钾 4.0 g 溶于 100 ml 蒸馏水中；c. 5% 苏木素溶于无水乙醇中；工作液：a 液 8 ml＋b 液 8 ml＋c 液 20 ml。

（2）Ⅱ液　5% 硫代硫酸钠。

（3）Ⅲ液　丽春红酸性品红液：a. 丽春红 1.0 g＋酸性品红 1.0 g 溶于 100 ml 蒸馏水中；b. 0.5% 偶氮桃红溶液；c. 0.5% 冰醋酸溶液；工作液：a 液 10 ml＋b 液 2 ml＋c 液 88 ml。

（4）Ⅳ液　10% 磷钼酸溶液。

（5）Ⅴ液　1.0 g 亮绿溶于 100 ml 0.5% 冰醋酸液。

2. 染色操作程序　切片按常规操作，二甲苯脱蜡、过无水酒精、95% 酒精和蒸馏水后：

a. 在Ⅰ液染 10 min；

b. 蒸馏水漂洗 2～3 min；

c. 2% 三氯化铁分化 30 s，镜下观察颜色；

d. Ⅱ液漂白 1 min；

e. 自来水冲洗 5 min，再用蒸馏水洗 1 min；

f. Ⅲ液染 10 min；

g. 0.5% 冰醋酸液漂洗 1 min；

h. Ⅳ液染 5 min；

i. 0.5% 冰醋酸液漂洗 1 min;

j. V 液染 5 min;

k. 0.5% 冰醋酸液漂洗 1 min;

l. 95% 酒精、无水酒精中脱水各 10 ~ 30 s 风筒吹干;

m. 常规二甲苯透明、中性树胶固定。

3. 显色结果　起搏细胞及移行细胞呈淡红色，普通工作心肌呈深红色，胶原纤维呈绿色，弹力纤维呈黑褐色。

参 考 文 献

1 Davies MJ. The conduction system of the heart. London Butterworth, 1983. 203 ~ 215

2 罗斌，宋--璇，祝家镇. 心脏传导系统的研究进展. 中国法医学杂志，1995，10(3)：182 ~ 184

3 罗斌，宋一璇，郭晓然，等. 心脏传导系统的一种新型染色法. 法医学杂志，1995，11(2)：59 ~ 60

4 中国医科大学主编. 人体解剖学. 北京：人民卫生出版社，1978. 218 ~ 273

5 谭允西. 心脏的传导系统. 青岛：青岛医学院出版社，1976. 1 ~ 46

6 罗斌，宋一璇，Dickens P，等. 人心传导系统纵切取材法及组织学观察. 解剖学报，1997，28(4)：379 ~ 382

7 宋--璇，吴义方，姚青松，等. 成人窦房结的透射电镜观察. 解剖学杂志，2001，24(1)：6 ~ 9

8 宋--璇，罗斌，姚青松，等. 一种简便的心脏传导系统检查法. 中国法医学杂志，1991，6(2)：92

9 罗斌，宋一璇，Beh PSL，等. 心传导系统取材方法的改进. 中国临床解剖学杂志，1998，16(3)：284 ~ 285

10 Lev M, John T Thomes. Aging changes in the human SAN. J Gerontol, 1954, 9(1): 1

11 Inoue S, Shinohara F, Niitani H, *et al*. A new method further histological study of aging changes in SAN. Jpn heart J, 1986, 27: 653

12 Burul janowa J, Wassilew G, Radanov S. Age – related structrual changes in the conducting system of the human heart. Zentralbl – Allg – Pathol, 1987, 133(5): 433

13 Chandrasiri N. Histopathological re – study of the human CCS in coroners autopsies. Med Sci Law, 1985, 25(1): 29

14 Shiraishi I, Takamatsu T, Minamikawa T, *et al*. Quantitative histological analysis of the human SAN during growth and aging. Circulatiou, 1992, 85(6): 1

15 罗斌，宋一璇，祝家镇，等. 窦房结主、间质形态学改变与年龄的相关研究. 中华心血管杂志，1995，23(4)：288 ~ 291

16 Erickson E, Lev M. Aging changes in the human AVN, bundle and bundle branches. J Gerontol, 1952, 7(1): 1

17 宋--璇，姚青松，罗斌，等. 230 例汉人 CCS 间质年龄变化的统计分析. 法医学杂志，1996，12(1)：4 ~ 6

18 Bharati S. Cardiac disease in sudden death. Arch Intern Med, 1984, 9: 1 811

19 宋一璇，罗斌，傅晨钟，等. 心脏传导系统简易检查法及常见致猝死病变(附 51 例观察). 中山医科大学学报，1993，14(4)：277 ~ 281

20 祝家镇主编. 病理学. 第 2 版. 北京：人民卫生出版社，1999. 357 ~ 368

21 姚青松，宋一璇，梁赏猷，等. 心脏房室连接区出血猝死 4 例尸检报告. 中国法医学杂志，1992，7(3)：175 ~ 176

22 宋--璇，姚青松，罗斌，等. 54 例心源性猝死心传导系统病变分析. 中华病理学杂志，1999，28(3)：187～190

23 宋--璇，罗斌，赵锦波，等. 胃癌窦房结转移致猝死 1 例. 中国法医学杂志，1996，11(4)：223～228

24 宋--璇，姚青松，罗斌，等. 心脏传导系统部位肿瘤的形态观察. 中华病理学杂志，1998，27(1)：1～12

25 Luo Bin, Song Yixuan, Yao Qingsong. A case of mesothelioma of the atrioventricular node. Chinese J of Cancer Res, 1997, 9(2): 155～156

26 姚青松，宋--璇，梁赏猷，等. 心横纹肌瘤累及房室传导系统猝死 1 例. 中国法医学杂志，1996，11(1)：47～48

27 姚青松，林少影，宋--璇，等. 886 例心传导系统形态变异研究. 中国法医学杂志，2000，15(4)：193～196

28 宋一璇，姚青松，罗斌，等. 6 例肥厚性心肌病猝死者心传导系统病变. 中国法医学杂志，1997，12(2)：112～114

第十三章　急性出血坏死性胰腺炎与胰腺出血

张益鹤

急性胰腺炎被认为是胰腺疾病中最常见的，且多以急诊形式就诊，为急性阑尾炎、胆道疾病、胃肠穿孔和肠梗阻以后，我国第5位常见急诊疾病。其中急性出血坏死性胰腺炎有的能引起猝死。胰腺出血是尸体剖验病理检查中常见的一种胰腺改变，能见于许多不同类型的原因。虽然大多数法医病理学家和基础或临床病理学家均认为致死的急性出血坏死性胰腺炎和胰腺出血是截然不同的2种病理变化，不能随意将尸检所见的胰腺出血诊断为急性出血坏死性胰腺炎。但是，直至目前不仅在法医病理学界，而且也在基础或临床病理学界、临床医学界中，仍有少数人将它们混淆。这不仅影响疾病和死因类型的统计，而且还直接关系到司法实践中对死亡方式或案件性质的正确鉴定。为此，将2种病理变化的有关问题和鉴别诊断结合国内外文献和本人的实践经验简单介绍如下。

第一节　急性出血坏死性胰腺炎

一、概念

急性出血坏死性胰腺炎(acute hemorrhagic necrotic pancreatitis)是由于某些原因发生的胰酶消化胰腺本身引起的，以胰腺水肿、出血、坏死为主要病变的一种急性炎症，是急性胰腺炎中发病率较低，但病情重而凶险、预后差、病死率高的一种病理和临床类型。当胰腺炎的病变主要为坏死，出血不明显时，亦有人称其为急性坏死性胰腺炎(acute necrotic pancreatitis)；当胰腺炎的出血相对显著时，又有人称其为急性出血性胰腺炎(acute hemorrhagic pancreatitis)。从其概念就可以看出，急性出血坏死性胰腺炎有以下几个主要特点：①其病变的实质是胰腺的急性炎症，所以患者发病较急，症状出现快，多有发热，血清和尿淀粉酶升高，常以急诊的形式就诊；②病理形态学上与急性胰腺炎的另一种类型——急性水肿性胰腺炎明显不同的是，它以显著的胰腺出血、胰腺腺上皮细胞和脂肪坏死为其特征；③坏死灶周围有急性炎症的共同变化，如充血、水肿、明显以中性粒细胞为主的炎性细胞浸润。这些临床和病理学的特征是

诊断急性出血坏死性胰腺炎的依据，也是与其他类似表现的疾病鉴别诊断的主要依据。

二、病因和发病机制

（一）病因

急性出血坏死性胰腺炎的病因较多，这些病因共同的特点是能引起胰液的分泌亢进和胰管不全阻塞。国外资料表明，约60%的急性胰腺炎（不只是急性出血坏死性胰腺炎，下同）发病与饮酒有关，我国急性胰腺炎患者发病主要因为胆道疾病，占50%以上。

1. 胆道疾病　大约70%的正常人群，胆总管和胰管共同开口于十二指肠降段，名为十二指肠乳头或十二指肠壶腹部，因而胆汁在某些情况下极易经逆流方式进入胰腺实质，将无活性的胰蛋白酶原激活成胰蛋白酶。后者又可激活弹性蛋白酶，上述酶作用于胰腺使之水肿、出血和坏死。同时胆汁内含有毒性物质，如游离胆汁酸、细菌毒素、非结合胆红素、溶血卵磷脂等，可直接损害胰腺。这种原因引起的急性胰腺炎，有人称其为胆源性急性胰腺炎（biliary acute pancreatitis）。胆结石是导致胆汁逆流入胰腺的最常见原因，有人报道，2/3的急性胰腺炎患者有胆石症，尤其是肥胖女性。胆石或蛔虫嵌顿于十二指肠壶腹部，或刺激引起局部炎症、水肿和痉挛，或因Oddis括约肌麻痹性弛缓，都可导致胆汁自十二指肠乳头经胰管进入胰腺而发病。作者所在单位曾尸检鉴定5例该病死亡，有2例系胆囊结石，1例胆道蛔虫引起。

例1　某女，25岁。某日上午吃了5个鸡蛋后约15 min，突发上腹部剧烈持续性疼痛伴恶心、呕吐。就诊时体温39℃，白细胞总数16.6×10^9/L，中性粒细胞占83%；尿淀粉酶增高达512 Winslow单位。后症状逐渐加重，出现休克。抢救无效，于发病后27 h死亡。尸检见一长约10 cm的蛔虫钻入胆总管，胰腺出血坏死，大量中性粒细胞浸润及脂肪坏死。

除胆石症外，如急性或慢性胆囊炎或胆管炎伴十二指肠乳头炎症性狭窄时，也可导致急性胰腺炎。

2. 酒精中毒　这是欧美等西方国家人群中发生急性胰腺炎的主要原因，其发病机制可能与下列因素有关：①酒精直接刺激胰液和胰酶的分泌，致使胰管和胆管的内压增高；②酒精刺激十二指肠乳头致其水肿和Oddis括约肌痉挛，使胰管内压增高；③酒精作用于胰腺腺泡细胞，使细胞内脂质增加，线粒体肿胀，膜破裂，胰腺细胞和胰小管上皮细胞变性坏死，加上胰液内蛋白含量增高，导致胰管阻塞；④酒精使血中甘油三酯升高，被胰脂肪酶分解后生成的游离脂肪酸损害胰腺；⑤过量酒精可使胃肠功能紊乱，如同时有暴饮暴食，则刺激胰液大量分泌。以上因素可导致胰液自胰管向外溢，损伤胰腺自身而发病。在上述作者做尸检鉴定的5例中，有1例是在晚餐饮酒后不久发病，上腹持续疼痛，伴恶心、呕吐。曾被诊断为食物中毒。

3. 其他因素

（1）胰腺缺血　已被动物实验证明，胰腺局部缺血、水肿，可以发展成出血坏死性胰腺炎，但一般认为此只是促进发病的因素。

（2）胰腺外伤　腹部的任何外伤如波及胰腺，均可引起胰腺的损伤性炎症，有人称其为外伤性胰腺炎（traumatic pancreatitis）。如胰腺因钝力打击发生挫伤或挫裂、胰腺内血肿等，不仅直接引起胰腺腺泡和胰管的损伤，还可因水肿或血肿压迫胰管，胰腺血供障碍而导致胰腺炎症。如同时有低血容量性休克，则胰腺供血不足或胰内小血管微血栓形成，可进一步加重胰腺炎症病变。手术损伤胰腺与胰腺外伤发病机制相同。

例2　某男，42岁。在纠纷中被人用拳打脚踢致伤腹部。伤后上腹部青肿、疼痛，恶心、呕吐，伴黑便等。伤后21 d出现休克及腹膜刺激的症状和体征，最后因呼吸及循环功能衰竭而死亡。尸检见胰体部出血性坏死明显，其中有1.5 cm×2.0 cm×1.8 cm出血区；胰周围被膜下纤维组织增生及脂肪坏死。镜下见胰腺内实质坏死，呈灶性分布，实质及间质内新旧出血灶并存，大量中性粒细胞及淋巴细胞浸润，

小脓肿形成。部分胰腺间质内纤维组织增生致胰腺小叶间隔增宽。胰腺被膜下纤维组织亦见增生，脂肪组织坏死灶周围纤维组织包裹及淋巴细胞和单核细胞为主的炎性细胞浸润（照片图 13－1、照片图 13－2）。腹腔 2 000 ml 暗褐色液体。胃与横结肠粘连处穿孔。死者因外伤致胃穿孔和外伤性急性出血坏死性胰腺炎，继发急性腹膜炎、感染中毒性休克而死亡。

（3）十二指肠乳头周围病变　如消化性溃疡、憩室、息肉、炎性狭窄等致十二指肠内压增高，导致十二指肠消化液反流入胰腺，以及胰液排出受阻。

（4）胰管阻塞性病变　如胰管炎性狭窄、胰管内蛔虫、胰管内结石等，均可部分或完全性阻塞胰管，致使胰液排泄受阻而内压升高，甚至胰管破裂而致胰液溢出，损伤胰腺。

（5）严重感染　如败血症性急性化脓性胰腺炎、病毒性胰腺炎，伴发于急性腮腺炎、病毒性肝炎等的胰腺炎。

（6）药物的毒副作用　有些药物，如利尿剂、糖皮质激素、口服避孕药、免疫抑制剂等约 30 种药物，可能直接损伤胰腺组织，或促进胰液分泌，或激活胰酶，或促使胰液黏稠度增高，或致胰管排出不畅。

（7）代谢因素　如见于高脂蛋白血症患者，特别是家族性高脂血症Ⅰ型和Ⅴ型，可促发或引起急性胰腺炎。

（8）原因不明　8%～25% 的急性胰腺炎患者的病因不明。

（二）发病机制

以上病因单独或几种病因共同作用，可使胰腺本身固有的保护机制受到破坏而发病。如以酶原形式存在于胰腺腺上皮细胞内的酶原颗粒中的胰腺细胞内许多酶；胰腺实质、胰管、十二指肠肠腔内正常的压力梯度；Oddis 括约肌和胰管括约肌正常的舒缩等，使胰液正常分泌和排泄。上述病因就是通过破坏胰腺内部这种自我保护机制而引起急性胰腺炎发病的。发病中胰腺局部的血液循环障碍，一系列炎症介质等都发挥了重要作用。根据近年的研究报告，急性出血坏死性胰腺炎的发病机制主要有以下几种学说。

1. 胰腺自我消化学说　即因胰酶被激活后损伤胰腺实质而致出血、坏死和炎性变化。这是最早被认识和公认的发病机制。范林军等（1998 年）的实验研究证实，大鼠急性出血坏死性胰腺炎模型制作后第 6 小时，胰腺内明显出血坏死，血清胰酶（淀粉酶、酯酶及磷脂酶 A_2）活性显著升高，十二指肠液及胰腺组织内胰酶活性显著下降；12 h 后，3 种酶活性均呈进行性降低，胰腺病变进行性加重。从而认为胰腺自身消化是急性胰腺炎早期病变的主要原因和早期病变。其中磷脂酶 A_2（PLA_2）是胰腺出血坏死及炎性细胞反应发生、发展的关键酶。而在疾病后期，PLA_2 活性下降。黎冬暄等（1998 年）对中国人尸体标本的实验和解剖观察，胆总管与主胰管合流部的解剖特点与胆汁反流入胰有关。正常人（22/23）的主胰管与胆总管之间有一层非薄的壶腹隔膜，有“活瓣”的作用，能阻止胆汁反流。约 8%（2/23）的人该“活瓣”构造不全。虽然中国人 80% 左右主胰管与胆总管有共同通道，但多数人的共同通道较短，不易发生胆汁反流入胰而发生急性胰腺炎。即使发生急性水肿性胰腺炎，也不易恶化发展成急性出血坏死性胰腺炎。主胰管和胆总管共同通道较长者，因两者汇合位置高、汇合角度大、汇合前缺乏较长的平行走行阶段，而使上述壶腹隔膜短而宽，不能遮盖主胰管口，“活瓣”功能不全而导致胆汁逆流入胰。但是，绝大多数人的十二指肠乳头，在正常情况下能有效地阻止胆汁反流。所以目前多数人认为胆汁反流入胰引起的“胰腺自我消化”，不是急性胰腺炎的主要发病机制，或者说只是在发病早期起作用。

2. “白细胞过度激活学说”　由 1988 年 Rinderecht 提出，认为在损伤因子（如异常激活胰酶）的作用下，单核/巨噬细胞系统被激活，并释放多种细胞因子，如肿瘤坏死因子（TNF）、IL_1 等。同时又进一步引起中性粒细胞和内皮细胞的过度激活，释放大量炎症介质。除加重胰腺损伤外，还随血流引起远离胰腺的脏器损伤，常累及肺造成急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome，ARDS），并可导致多器官功能衰竭（MODF）而死亡的临床特点。

3. 微循环障碍学说　在胰酶损伤性作用、多种细胞因子和炎症介质的共同作用下，胰腺不仅发生缺

血、出血，微循环也出现紊乱。王昆华等（1998 年）复制大鼠急性胰腺炎以探讨其发病机制的研究中，观察到模型制作后 3 h，血中血栓素$_2$（TXA_2）的浓度就显著升高；6 h 后达高峰；随之前列腺素（PGI_2）也升高，但幅度远小于 TXA_2，两者正常的平衡关系失调，导致胰腺微血管异常收缩、痉挛，微血栓形成，血流量降低。TXA_2 又促使血小板黏附、聚集和释放许多血管活性物质，如 5－羟色胺，进一步促进血管收缩、微血栓栓塞、内皮细胞损害及血管通透性增高。胰腺缺血时由于腺泡膜结构和功能的破坏，导致 Ca^{2+} 的内流，又引起细胞钙超负荷，激活依赖 Ca^{2+} 的膜结合磷脂酶 A_2 催化膜磷脂水解生成 TXA_2 和 PGI_2，也导致 TXA_2/PGI_2 平衡破坏，微循环紊乱使胰腺的自我保护屏障被破坏而发生缺血、出血、缺氧、水肿、坏死和继发感染，出现恶性循环。如果能改善胰腺的微循环，则胰腺的病变可明显减轻。胰腺组织对血流量的变化极为敏感，这种微循环紊乱可直接诱发急性出血坏死性胰腺炎的发生和促使其由急性水肿性胰腺炎的急性出血坏死性胰腺炎发展。周总光的研究发现胰腺小叶的营养血管为无交通支的终端动脉，故易于发生栓塞而引起胰腺小叶的坏死。微循环紊乱被认为是急性胰腺炎病变发生、发展的重要机制，尤其在病变的后期，可能起了主要作用。

三、病理变化

急性胰腺炎按病变特点不同，一般分为急性水肿性胰腺炎（acute edematous pancreatitis）或称急性间质性胰腺炎（acute interstitial pancreatitis），及急性出血坏死性胰腺炎 2 类。急性水肿性胰腺炎较多见，约占 90%。其主要病变是整个胰腺肿胀变大，质地变实，镜检可见胰腺间质充血、淤血、水肿及以中性粒细胞为主的炎性细胞浸润，可伴有轻度的胰腺坏死。少数可恶化发展成为急性出血坏死性胰腺炎。

急性出血坏死性胰腺炎的发病率较低，但病变显著较上型为重，主要表现为以下几方面。

（一）胰腺的病变

1. 胰腺实质的坏死　表现为斑点状的胰腺实质坏死，一般为凝固性坏死。胰腺腺上皮核固缩、碎裂或溶解，胞质浑浊，或伴有胰小管上皮细胞的坏死；坏死细胞轮廓不清，胰腺小叶结构模糊（照片图 13－3）。

2. 胰腺实质和间质内显著的出血　系因小血管受胰液损害而引起。后期随病变发展可出现胰腺内动脉和小动脉坏死，静脉内常有血栓形成。

3. 以中性粒细胞为主的急性炎性细胞浸润　以胰腺实质坏死和出血的周围较明显（照片图 13－3），严重时可形成化脓性病灶。如由病毒感染引起者，则以单核细胞、淋巴细胞浸润为主。

4. 胰腺内脂肪细胞坏死　核消失，胞质浑浊。有的伴钙盐沉着。

例 3　某女，30 岁，因急腹症就诊，被误诊为急性阑尾炎。手术时见腹腔内有约 200 ml 橙黄色油性液体。术后第 2 天出现休克症状，体温 40℃，白细胞计数 21×10^9/L，中性粒细胞占 90%。抢救无效，于发病后 60 h 死于感染中毒性休克。尸检见：胰腺呈急性出血坏死性改变；肠系膜、网膜及腹膜后脂肪组织广泛坏死（照片图 13－4）；胰腺周围及结肠系膜内小脓肿形成；主胰管内见一条蛔虫梗阻（照片图 13－5）。

据动物实验模型研究，在模型制作后第 2～3 小时，就能明确见到胰腺小灶性坏死，少量中性粒细胞浸润和脂肪坏死；4 h 后病变加重，多量白细胞浸润；8 h 后，大片坏死出血；16 h 后，大量白细胞聚集，脓肿形成；24 h 后，病变更为广泛严重。电镜观察：2 h 后胰腺腺上皮细胞内大量粗面内质网、脂滴和次级溶酶体，血管内皮细胞肿胀；4 h 后腺上皮细胞核固缩，间质内大量炎性细胞及纤维素渗出；8 h 后核膜皱缩，染色质边集，粗面内质网扩张，自噬体出现；24 h 后，细胞明显破坏，见大小不等的空泡、脂滴及次级溶酶体，线粒体肿胀、稀疏等。自噬体和次级溶酶体增多被认为是自我消化的特征。

（二）其他脏器的病变

1. 胰腺周围脂肪组织坏死　肉眼观察：脂肪坏死灶呈黄白色或象牙色斑点或斑块状，稍隆起，散在

分布于大网膜、肠系膜表面。其形成机制是外溢胰液中的酯酶将脂肪组织中的中性脂肪分解成甘油及脂肪酸，后者与组织液中的钙离子结合生成不溶性的钙皂，从而导致脂肪组织坏死。

2. 胰腺周围腹水　呈血性或富含脂肪、牛肉汁样的渗出液，一般量为 200 ml 左右。

3. 肺　显著淤血、水肿，出现小叶性肺炎或间质性肺炎，或 ARDS 的病变。

4. 心　心肌可因 PLA_2 及心肌抑制因子（MDF）的作用而变性、肌原纤维溶解，间质水肿和炎性细胞浸润。有的甚至可见急性心肌梗死病变。

5. 肾　肾小管上皮细胞水肿、变性或坏死。

6. 肝　肝细胞脂肪变性，重者凝固性坏死。

7. 脑　淤血、水肿，神经细胞在光镜下变化不明显。

四、临床表现

急性胰腺炎患者多为女性。其症状和体征依病变类型和程度不同而异。急性水肿性胰腺炎一般症状较轻，病程较短，3～5 d 可缓解或反复发作。急性出血坏死性胰腺炎者则病情重，少数可在短时间内死亡，甚至猝死，但极少见。

（一）症状和体征

1. 腹痛　95% 患者有急性发作的腹痛，常在酒后或饮餐后发生。轻重不一。急性出血坏死性者多较重，有的呈绞痛、钻痛或刀割样痛，常呈持续性伴阵发性加剧。其疼痛部位多在中上腹或左上腹，可向左肩放射，后可延及整个腹部。严重者可因剧烈疼痛而发生休克。这是区别于急性水肿性胰腺炎的显著特点。除非老年体弱的患者，罕见没有腹痛出现的。

同时，还可有腹肌紧张、压痛、反跳痛、腹水征等。

2. 恶心、呕吐　常见于进餐后，呕吐后腹痛不能减轻。

3. 发热　多为中度以上的发热，少数为高热，一般持续 3～5 d。

4. 黄疸　常为阻塞性黄疸，于发病后 1～2 d 出现，一般持续几天消退。如持续不退并加深，则提示由胆总管结石引起。

5. 低血压和休克　如出现，预后较差。

6. 急性呼吸功能衰竭　其特点为突然出现的进行性呼吸窘迫、过度换气、紫绀、焦急、出汗等，常规给氧疗法不能使之缓解。其发生机制是肺水肿、出血、微血栓形成和肺泡透明膜形成。有人称其为成人呼吸窘迫综合征（ARDS），可在早期出现。此改变也可见于其他许多病因，非急性出血坏死性胰腺炎所特有。如出现，预后亦差。

7. 急性肾功能衰竭　约见于 23% 重症患者，并常因此而死亡。出现急性肾功能衰竭时，死亡率可高达 80% 左右。

8. 心力衰竭与心律失常　后者或由心肌梗死引起。50% 患者可有 ST 段改变、传导阻滞、早搏等，尤多见于胆源性急性胰腺炎。

9. 胰性脑病　发生率为 6%～12%，表现为精神、神经异常，如谵妄、抑郁、恐惧、妄想、幻觉，多为一过性。也可有昏迷、烦躁、共济失调和偏瘫等。如持续或反复发生，则预后差。

10. 代谢异常　如：①低血钙症，血钙 <2 mmol/L，如 <1.75 mmol/L 且持续数天，预后多不良；②高脂血症；③高血糖症，约见于 50% 患者，多为暂时性的，少数有持续轻度糖尿；④高血凝状态等。

（二）并发症

急性出血坏死性胰腺炎患者如能度过急性期，部分患者可出现以下并发症。

1. 腹腔或腹膜后脓肿　呈局限性或弥漫性，急性或慢性，无菌性或感染性。

2. 假性囊肿　多在发病后 3～4 周后形成。多位于腹中部或左上腹。有的可很大，在某种原因（如

外伤)作用下破裂,形成腹水,其中淀粉酶和脂肪酶含量明显增高。少见的情况下甚至可破入胸腔、纵隔,甚至颈部。要注意的是,这种假性囊肿也能见于腹部钝器伤后。

3. 消化道出血　多为上消化道应激性溃疡的结果,也可因胰腺出血坏死病变穿透胃肠壁引起。如有,预后极差。

4. 败血症及霉菌感染　败血症为胰腺局部炎症全身扩散的结果。重症患者还可因抵抗力显著降低及大量抗生素应用,继发霉菌感染,常见致病菌为白色念珠菌、跟足菌和酵母杆菌。

5. 多器官功能衰竭　是其常见的死因。如 ARDS、急性心力衰竭、急性肾功能衰竭、循环衰竭、消化道出血、胰性脑病、败血症、DIC 等。

6. 慢性胰腺炎　由于胰泡大量破坏,结缔组织增生,并发胰腺外分泌功能不全演变而成。

7. 糖尿病　见于重症胰腺炎者,由于 β 细胞受到较严重破坏,胰岛素分泌减少引起。

(三)实验室检查

对于急性出血坏死性胰腺炎的确诊和鉴别诊断十分重要。

1. 淀粉酶显著升高　包括:①血清淀粉酶增高,症状出现后 2~12 h 即升高,超过 350 Somogyi 单位即可怀疑本病;超过 500 Somogyi 单位即能确诊,约见于 90% 患者。但也有 10% 致死性胰腺炎患者血清淀粉酶可始终在正常范围,同时某些非胰腺炎患者血清淀粉酶也可增高,如胃肠穿孔、胰腺肿瘤等。如早期持续升高,后来突然下降,但临床症状并未减轻时,是急性出血坏死性胰腺炎的征象和预后凶险或不良的先兆;②尿淀粉酶升高,一般见于发病后 12~24 h,每小时排量超过 500~1 000 Somogyi 单位有诊断价值;③淀粉酶清除率与肌酐清除率比值(Cam/Ccr),一般应小于 4%。急性胰腺炎时显著升高,达 6.6% 左右。但也可见于其他一些疾病;④淀粉酶同工酶-胰型淀粉酶(Pam)显著升高。

2. 其他酶测定　包括:①血清脂肪酶升高,一般见于发病后 72~96 h;②血清胰蛋白酶升高;③血清正铁血白蛋白(methemalbumin,MHA)阳性,可见于发病后 12 h,4~6 d 达高峰。此虽并非诊断急性胰腺炎的特异指标,但一般认为是区分水肿性和出血坏死性胰腺炎的指标之一,操作简便;④胰蛋白酶原活性肽(trypsinogen activated pepsin,TAP)活性升高,TAP 是胰蛋白酶原被激活后的产物,据报道,其对诊断出血坏死性胰腺炎的准确率为 87%,敏感性 80%,特异性 90%,有较高诊断价值;⑤白介素-6(interleukin-6,IL-6)升高,其浓度超过 130 mg/L 时,诊断出血坏死性胰腺炎敏感性为 100%,特异性 71%;⑥C 反应蛋白(C-reactive protein,CRP)升高,当其值超过 250 mg/L 时,提示胰腺广泛坏死,敏感性 67%~100%,特异性 71%~100%。

3. 电解质变化　包括:①血清钙轻度下降,多不低于 1.9 mmol/L,一旦显著下降,则预示极有可能死亡;②血钾降低。

4. 其他检查　包括胸腹部 X 射线拍片、超声波、CT 检查等,尤其是 CT 检查对鉴别急性水肿性与出血坏死性胰腺炎较有价值。

五、预后

急性水肿性胰腺炎常在 1 周内恢复,并不留后遗症。急性出血坏死性胰腺炎的预后差,有人报道,其病死率高达 50% 以上。Ranson 等提出以下 11 个危险因素:①55 岁以上;②血白细胞计数超过 16×10^9/L;③血糖高于 11.12 mmol/L;④乳酸脱氢酶超过 200 IU/L;⑤AST 大于 250 IU/L;⑥PaO_2 < 8.0 kPa(60 mmHg);⑦血钙低于 2 mmol/L;⑧血细胞比容下降超过 10%;⑨BUN 增加,高于 1.79 mmol/L;⑩碱缺乏大于 4 mmol/L;⑪失液量超过 6 L。他指出,以上因素超过 3 个,死亡率明显增加;具有 6 个以上,死亡率为 60%~100%。以上可供分析时参考。

实际工作中,当出现休克、心动过速(心率超过 130 次/min)、心律失常、心电图异常、呼吸困难、急性肾功能衰竭、意识障碍时,其死亡率明显升高。但实际上因急性出血坏死性胰腺炎引起猝死者很

少见。

第二节　胰腺出血

尸体剖验时，肉眼和病理组织学检查检见胰腺出血是十分常见的。有些人甚至仅凭此种现象，就鉴定死因为急性出血坏死性胰腺炎。实际上，胰腺出血可见于许多非急性出血坏死性胰腺炎的原因。鉴别胰腺出血和急性出血坏死性胰腺炎具有十分重要的法医学意义。因为如把非急性出血坏死性胰腺炎的胰腺出血，错误鉴定为急性出血坏死性胰腺炎死亡或猝死，就有可能把真正的死因遗漏，甚至将一些暴力性死亡，刑事犯罪案件错定为自然死亡，而放纵犯罪。反之，则有可能将急性出血坏死性胰腺炎误定为其他死因或暴力性死亡，而会为刑事侦查提供错误方向，甚至造成冤案错案。也有由于对这个问题认识不同导致反复鉴定的情况。

例4　某女，19岁，一日晨被发现死亡。尸检见体表窒息征象明显，颈部左侧有一个典型的指压痕性的皮肤凹陷和皮下出血；处女膜新鲜破裂，阴道内容物检出精子。因尸体剖验时肉眼见整个胰腺有弥漫性被膜下出血而最初被认为是急性胰腺出血猝死。后破案证实为强奸杀人（扼死）案。

例5　被人投放氰化物而急性中毒死亡。因尸体剖验时肉眼观见整个胰腺弥漫性出血，而鉴定为急性出血坏死性胰腺炎猝死。后经毒物分析检出氰化物而得以纠正，后被破案证实。

一、概念

胰腺出血（pancrease hemorrhage），顾名思义指的是胰腺组织内有出血的征象。更确切地说，为了同前述急性出血坏死性胰腺炎时胰腺内的出血相区别，它指的是胰腺实质没有坏死变化及炎性细胞浸润，也没有脂肪坏死的一种单纯性的胰腺组织出血。其出血的部位和程度可因原因不同而有差别。

二、病因和发病机制

胰腺出血是死前形成的一种病理学变化。其原因和发生机制是多种多样的，在尸体剖验和胰腺病理组织学检查中十分常见。现简述于下。

（一）胰腺外伤

在前述急性出血坏死性胰腺炎的病因中，虽然也提到胰腺外伤可以引起急性胰腺炎。但当胰腺外伤而不伴有胰管阻塞和（或）胰腺实质的广泛破坏时，却导致急性出血坏死性胰腺炎是相当少见的。如果胰腺受钝性打击出现挫伤、挫裂伤或者被锐器（多为刺器）和火器直接损伤时，都可以出现不同程度的胰腺出血。这种出血是由于损伤致胰内血管破裂引起，有时可形成胰腺血肿。

（二）中毒

刘敏等曾就191例急性死亡（包括11例急性出血坏死性胰腺炎）法医尸检资料进行分析，在35例胰腺出血中属于各类中毒的有12例，占34.29%，为最多见。日本松仓丰治报道，在18例急性有机磷农药中毒死亡尸检病例中检见胰腺出血者有11例，占61.10%；86例氰化物中毒尸检中有49例见胰腺出血，占57%。龚毓昌等报道，在1984～1997年间46例中毒尸检病例中，有22例见胰腺不同程度的出血，占47.8%。他指出毒物流经十二指肠时对十二指肠乳头的作用致消化液反流入胰管和胰，是胰腺出血的发生机制。黄光照在其有关农药和有机磷农药中毒的尸检病例报道中，也指出常见有胰腺出血的变化（照片图13－6）。

（三）窒息

包括机械性窒息、电击性窒息、病理性窒息等。由于在机体缺氧状况下，全身毛细血管通透性增加，

很多脏器的浆膜或黏膜下都可检见出血斑点。胰腺被膜下及实质内血管周围出血自然也不能例外。这类胰腺出血一般呈斑点状，弥散分布，为窒息死亡的一般病理变化。如同在窒息死者的眼结膜下、心外膜下、主动脉外膜下、肾上腺被膜内等疏松结缔组织内的出血一样，其实质是缺氧窒息时毛细血管壁通透性增加引起的漏出性出血。

例6　某男，30岁，劳改犯人。一日晚因故与另一劳改犯人发生争吵斗殴，次日被发现缢死在室外篮球架上。经当地法医尸检，除颈部一条八字不交的生前缢沟外，体表未检见其他损伤或异常。尸体剖验见胰腺头部及体部被膜下及间质明显出血，而鉴定为外伤性胰腺出血。该犯人法医分析其是在胰腺出血腹痛难忍的情况下自缢死亡。因此，另一犯人原判为无期徒刑，因而改判死刑。复查该案时对保存的胰腺标本做组织切片镜检，鉴定胰腺出血系缢死引起机械性窒息所致，非外伤性，避免了上述错误。

三、死后自溶与胰腺出血

胰腺是人死后最早发生自溶的脏器之一。据文献及作者的经验，死后2～3 h即可观察到胰腺的明显自溶。其原因显然与胰腺内丰富的胰酶消化胰腺组织本身有关。尤其是死前饱餐者，因刺激胰液分泌，胰腺死后自溶发生更快。胰腺自溶不同于其他脏器的特点还表现在其自溶可呈灶性、多中心性或弥漫性分布（照片图13－7）。因此，容易被误认为是胰腺坏死而诊断为急性出血坏死性胰腺炎。自溶时胰液不仅作用于胰腺实质细胞，也同时作用于胰腺内的小血管和毛细血管，使血液或血浆向血管外浸润，使原有出血的胰腺间质或实质的出血更明显。此时出血灶内的红细胞常因自溶，在光镜下仅见其轮廓（照片图13－8）。所以，在各种猝死、机械性损伤、机械性窒息、高低温、电击和中毒等死亡的尸检病例，即使肉眼观察，大多也能检见有不同程度的胰腺出血。

四、胰腺出血的病理变化

非急性出血坏死性胰腺炎的胰腺出血以散在点状出血最多见，数目可多可少，但一般较少。出血在胰头、胰体、胰尾部的分布差异不显著，也可表现为整个胰腺的弥漫性出血。除胰腺外伤引起的出血外，胰腺本身无明显水肿、变硬的变化。因为胰腺较早发生自溶的缘故，其质地多较软，色泽暗红，浑浊。切面肉眼观察，在结构不太清楚的胰腺内见散在的出血区。镜检可见出血多在胰腺被膜下和间质内，少数出血也会呈灶性见于胰腺实质内。自溶的胰腺腺上皮细胞核固缩或核溶解消失，但罕见核碎裂，而不同于许多细胞坏死时以核碎裂多见的特点；自溶灶周边的腺上皮细胞核常被苏木素浓染。上述较特殊的胰腺死后自溶改变易被误诊为胰腺坏死。但没有急性出血坏死性胰腺炎时应可见的胰腺坏死、急性炎性细胞反应和脂肪坏死，借此可将两者鉴别开来。

非急性出血坏死性胰腺炎时的胰腺出血一般可检见胰腺以外的致死性病变或原因，如冠心病、脑血管意外、颅脑外伤、机械性窒息、电击、中毒等。有的还可在其他脏器检见同样的出血变化。

第三节　胰腺出血、急性出血坏死性胰腺炎与猝死

一、胰腺出血与猝死

尽管尸检常见有胰腺出血，但其产生的原因、出血的部位、程度可相差很大。其中一部分是死前的胰腺病变，但这只是其他致死性疾病、损伤或中毒的在胰腺表达出来的反应。其在病人死亡的发生中没有起作用，不能将其作为死因诊断。

实际工作中，不仅一些法医尸检报告，还有病理学尸检报告，都将这种胰腺出血冠以疾病名称当作

猝死的死因，如称其为急性胰腺坏死、急性胰腺出血性坏死、猝死型胰腺炎、急性出血坏死性胰腺炎，或者称其为以猝死为特征的坏死性出血性胰腺炎。其实是将这种反应性胰腺出血和胰腺自溶误诊为急性胰腺炎或急性出血坏死性胰腺炎。因而将本来极少引起猝死的急性出血坏死性胰腺炎在猝死死因排位中不恰当地提升，有的甚至将其排在所有猝死死因之首或第二位。这也反映了在病理诊断中正确认识胰腺出血与猝死的关系，或正确鉴别胰腺出血、胰腺自溶与急性出血坏死性胰腺炎的重要性。国外早在1950年，William就报道过5例被他称为急性胰腺坏死的猝死病例，他之所以这样冠名而没有诊断为胰腺炎，显然是由于他所报道的尸检病例中，并没有检见急性出血坏死性胰腺炎应有的急性炎性细胞浸润和脂肪坏死。所以在以后的国外文献或病理学参考书中并无类似的尸检案例报道。被国内外公认的权威病理学Anderson病理学中也指出胰腺出血可见于许多原因，包括窒息、损伤和中毒等。

二、急性出血坏死性胰腺炎与猝死

1. 避免泛化诊断　已如前述，急性出血坏死性胰腺炎由于胰腺急性坏死性炎症损害严重，以及可能的严重并发症，其病死率相当高。但一般从发病到死亡有一个渐进加重的过程，死亡多发生在发病后几天。据毛棣华等(1995年)动物实验观察，16 h组死亡率20%，24 h组死亡率50%。最早死亡时间为14.25 h，平均19.80 h，也说明急性出血坏死性胰腺炎死亡发生并不急骤。临床也有极少数患者，由于这样或那样的原因，在发病后较快地以猝死形式死亡，但一般也有几个小时的病程。急性出血坏死性胰腺炎猝死不仅在急性出血坏死性胰腺炎自身的死亡发生中，而且在消化系统疾病猝死和整个猝死死因中都是不常见的。James报道的2 000例猝死病例尸检中，仅有4例因本病而死。日本东京都监察医务院自昭和26～35年10年间共尸检9 745例，其中急性胰腺炎死亡者仅7例。作者所在单位从1957年至今40多年3 000多例的法医病理尸检中，诊断为本病死亡的仅5例，无一例猝死。黄光照等总结1956～1981年尸检诊断冠心病猝死102例，而同期诊断为急性出血坏死性胰腺炎死亡的仅3例，1例男性，2例女性。死前均有明显的急腹症和休克症状，分别于发病后27，57和60 h后死亡。按猝死诊断的时间标准，他们均不能诊断为猝死。在国外的猝死死因分析报告中尚未见将急性出血坏死性胰腺炎列为第一位或第二位的。不少法医病理学和法医学著作的猝死章节内都没有讲述急性出血坏死性胰腺炎，可见因本病引起猝死者很少见。

但是1976年至1991年间，国内一些法医病理学和基础或临床病理学者，仍发表了一些不同冠名的所谓猝死型胰腺炎或急性出血坏死性胰腺炎猝死的报道，将胰腺出血、胰腺自溶同急性出血坏死性胰腺炎相混淆，使急性出血坏死性胰腺炎成为他文章中第一或第二位的猝死死因。如有人在《湖南医学》上报道的219例猝死病例尸检中，诊断为急性出血性胰腺炎死亡者达93例，占42.47%，而同组资料中被诊断为心血管系统疾病猝死仅29例；呼吸系统疾病猝死者24例；中枢神经系统疾病猝死39例；消化系统疾病猝死104例。把急性出血坏死性胰腺炎列在所有疾病和消化系统疾病猝死死因中的首位，远高于其他系统疾病，而且其中不少被诊断为睡眠中猝死。1983年全国第一届法医学术讨论会上也有人报道126例急性出血坏死性胰腺炎尸检分析，其中51例(40.50%)为睡眠中死亡。刑事技术资料上还有一篇115例睡眠中猝死死因分析，诊断为急性胰腺出血性坏死者69例，是惟一消化系统疾病诊断，占全部115例的60%，为第一位睡眠中猝死死因。而冠心病仅22例；呼吸系统疾病20例；中枢神经系统疾病4例。显然他们的报道与国内外绝大多数的相关报道不符。在他们的报道中，被诊断为猝死型急性出血坏死性胰腺炎和猝死型胰腺炎的报道中，相当一部分是即时死。他们还分析这样快发生猝死的机制是胰腺水肿或出血性坏死刺激或压迫腹腔神经丛，导致神经反射性休克或迷走神经反射性抑制心脏搏动而因心跳骤停死亡。并推断由于迅速发生的昏迷使患者没有腹部疼痛的主诉等。但实际上许多病变更为严重的急性出血坏死性胰腺炎患者并没有死亡，或者死亡发生不急促，却为什么没有启动上述机制引起神经反射性死亡呢？显然他们的解释不能令人信服。他们之中也有人认为这类迅即死亡或睡眠

中猝死发生的机制尚不清。从这些报道中描述的一些死亡发生经过分析，更像冠心病猝死或法医学界已认可的一种原因尚不明的青壮年猝死综合征(sudden manhood death syndrome，SMDS)。日本法医病理学界对此曾作大量研究，我国也有专题报道发表。在有的报道中他们描述其他脏器病变时可见肺部的炎症、心传导系统出血或变性坏死、心脏显著增大、心腔明显扩张等，一般认为很有可能成为、甚至就是上述所谓猝死型急性出血坏死性胰腺炎尸检病例的真正死因，而未被诊断出来。上述报道中所描述的胰腺的病理变化绝大多数没有明显的炎症反应和脂肪坏死等典型的急性出血坏死性胰腺炎的病变，所以有些人不用胰腺炎的诊断而用"急性胰腺坏死"、"急性胰腺出血性坏死"来命名，认为由于死亡发生太快而来不及出现炎症反应病变。作者认为其更有可能是将胰腺的死后自溶当作胰腺坏死，将胰腺出血当作一种致死性病变。因为在检查时发现胰腺的上述反应性或自溶导致的改变远较一些病理形态学改变不显著的真正死因(而这类死因已被许多法医病理学者所认识)的病变明显，所以忽略了真正的死因、而把胰腺出血作为死因。

2. 法医病理学诊断要点　正如前面所述，急性出血坏死性胰腺炎中极少数病例也能导致猝死。但鉴于目前认识尚未完全统一，其诊断应十分慎重。首先必须详细了解或调查死者死前的发病经过、症状、体征和死亡发生的具体情况，尤其注意有无剧烈腹痛、休克等表现；如曾经就诊，应索取病历，其中血、尿等理化检查报告是否与急性出血坏死性胰腺炎相符合；以及系统全面的尸体剖验，是诊断本病猝死的基础和必要条件。而且不能仅满足于肉眼观察。因为肉眼观不能将胰腺出血与本病鉴别，尤其当本病的病变不是十分严重和明显时。即使胰腺已明显自溶，但间质内仍可见尚未完全破坏的炎性细胞浸润(照片图 13－9)。在此要特别强调，除了常规病理组织学检查外，只要尸体尚未明显腐败，就应提取其血液、尿、腹腔积液等送作测定淀粉酶等。尸体剖验时还要注意检查有无前述急性出血坏死性胰腺炎的常见病因，如胆道结石或蛔虫、胆囊或胆管的急、慢性炎症等。血中酒精浓度的检测也有参考意义。

急性出血坏死性胰腺炎猝死的法医病理学诊断要点小结如下。

(1)从发病到死亡应有一个从发生、发展，症状逐渐加重到最后死亡的临床过程。其猝死不可能表现为即时死(instantaneous death)，或在发病后 1～2 h 内死亡。这是由本病发病机制和病理变化决定的，并由动物实验结果所证实。

(2)死者在发病过程中一般都应有剧烈的腹痛，其疼痛常达到自己难以忍受的程度，多有明显的休克症状和体征。同时还常伴有恶心、呕吐、呼吸困难等易于为一般人所识别的表现。因此通过调查死者的亲属、子女及在场的其他人，应能证实上述表现，除非他们由于某种原因而故意隐瞒。这种病的患者在安静状态下无症状，或者在睡眠中安然地发生猝死是难以令人信服的。

(3)通过系统尸体检查，检出急性出血坏死性胰腺炎的典型病理变化，包括除了胰腺出血、坏死外，还应检见明显的炎性细胞浸润，多为中性粒细胞和单核细胞(如为病毒感染所致，可以淋巴细胞为主)。即使是胰腺已显著自溶，由于中性粒细胞等炎性细胞的自溶相对胰腺自溶为慢，镜下观察仍可在显著自溶的胰腺间质内见到炎性细胞反应征象。胰腺实质内、周围肠系膜、大网膜上还可见因脂肪坏死形成的黄白色斑点状皂斑。此外，有时还可找到发病原因，如胆管结石或蛔虫、急性酒精中毒、主胰管和胆总管解剖异常、急性或慢性胆(囊)管炎、十二指肠乳头炎性狭窄等。

(4)如死前曾在医院就诊检查和治疗，或者尸体剖验时提取血、尿、腹腔积液等化验，符合本病的特征性变化。如血清淀粉酶超过 500 Somogyi 单位；尿液或腹水中淀粉酶显著升高；血清 MHA 强阳性、TAP 阳性、IL－6 超过 130 μg/ml；CRP 超过 250 mg/L 等。

(5)如果死前病史和表现不清，又未能做必要的实验室检查，则还应通过调查和尸检彻底排除其他可能的死因，尤其是隐蔽的暴力犯罪手段。

参 考 文 献

1　黄光照，秦启生. 关于急性坏死出血型胰腺炎在尸检诊断问题上的商榷. 中华消化杂志，1981，1(4)：308

2　陈新山，黄光照. 急性坏死型胰腺炎2例尸检的启示. 临床误诊误治，1994，7(3)：135

3　贾静涛，宋驷荣. 胰腺出血的分析. 辽宁医药，1980，(7)：43

4　刘敏，吴家文. 35例胰腺出血案例死亡原因分析. 法律与医学杂志，1995，2(3)：128

5　龚毓昌，秦志强. 22例中毒死者胰腺出血坏死的法医病理学研究. 法医学杂志，1999，15(1)：5

6　黄光照，胡济宏. 有机磷农药E605急性中毒病理变化(附18例尸检报告). 中华病理学杂志，1964，8(1)：6

7　黄光照. 几种常用农药中毒的病理变化. 中华病理学杂志，1965，9(2)：99

8　吴梅筠. 56例胰腺炎尸检分析. 四川医学院学报，1976，(2)：26

9　吴宝琛. 睡眠中急死115例死因分析. 刑事技术资料，1981，(2)：1

10　赵经隆，赵进友. 126例急性出血坏死性胰腺炎尸检分析. 见：第一届全国法医学术讨论会论文汇编编委会编. 第一届全国法医学术讨论会论文选编. 北京：群众出版社，1983. 335～340

11　苏哲坦，李兴安，杜长春，等. 以猝死为特征的坏死性出血性胰腺炎21例分析. 辽宁中级医刊，1981，(6)：18

12　李载容. 急性出血坏死性胰腺炎42例分析. 四川医学，1981，2(3)：152

13　邱向南. 急性暴发型出血性胰坏死15例死亡病例报告. 新医药通讯，1973，(6)：19

14　孟垂祥，董荣春，陈志勇. 猝死性胰腺炎的病理形态学观察. 第二军医大学学报，1982，(4)：281

15　文继舫. 急性胰腺炎113例尸检分析. 湖南医学院学报，1986，11(3)：237

16　张伟. 胰腺炎急性出血坏死17例尸解分析. 中华病理学杂志，1966，10(2)：97

17　唐振锋，陈家伦，许曼音，等. 急性胰腺炎113例分析及探讨. 中华内科学杂志，1956，(9)：669

18　黄其善，张艳仙，文继舫. 急死尸检219例的分析. 湖南医学，1986，3(1)：15

19　张禹. 猝死型胰腺炎6例报告. 北京医学，1987，9(3)：137

20　张禹. 有关猝死型胰腺炎几个问题. 实用内科杂志，1987，7(2)：112

21　屠道同. 急性胰腺坏死与猝死. 青海医药，1980，(6)：41

22　董荣春，闵新歌，金海. 急性出血坏死性胰腺炎致猝死31例病理形态学分析. 第二军医大学学报，1990，11(5)：413

23　顾倬云，张国华，陈乐真. 急性胰腺炎死亡病例研究. 中华外科杂志，1991，29(5)：315

24　林庚金. 急性胰腺炎. 见：陈灏珠主编. 实用内科学. 第10版. 北京：人民卫生出版社，1997. 1 649～1 657

25　李德祥. 急性出血坏死性胰腺炎. 见：祝家镇主编. 法医病理学. 第2版. 北京：人民卫生出版社，1999. 376～377

26　赫明昌. 胰腺炎. 见：武忠弼主编. 病理学. 第3版. 北京：人民卫生出版社，1990. 328～330

27　张圣道. 关于当前重症急性胰腺炎的研究方向. 中华实验外科杂志，1998，15(5)：385

28　秦仁义，邹声泉，吴在德，等. 内脏血管灌注对急性出血坏死性胰腺炎大鼠血清白细胞介素-6含量的影响. 中华实验外科杂志，1998，15(5)：387

29　范林军，顾红光，段恒春，等. 胰酶自身消化在大鼠急性出血坏死性胰腺炎病程中的作用. 中华实验外科杂志，1998，15(5)：389

30　蒲青凡，严律南，刘续宝，等. 急性胰腺炎由水肿向坏死发展过程中的钙稳态及前列腺素类异常. 中

华实验外科杂志,1998,15(5):391
31 黎冬暄,田伏洲,李红,等.胆胰合流部解剖特点与急性胆石性胰腺炎的关系.中华实验外科杂志,1998,15(5):392
32 徐永正,王翠英.有关急性胆源性胰腺炎病理生理的目前观点.国外医学·消化系疾病分册,1996,6:25
33 谷俊朝,秦兆寅,王宇.急性坏死性胰腺炎合并多器官损害动物模型的建立.中华实验外科杂志,1998,15(5):395
34 姜永峰,张延龄.急性胰腺炎的实验研究进展.国外医学·外科学分册,1996,23:13
35 王昆华,廖吉勋,李达科,等.急性胰腺炎大鼠不同途径灌注改善微循环药物后血浆血栓素 A_2、前列环素的变化.中华实验外科杂志,1998,15(5):396
36 倪泉兴,张妞,张群华,等.生长抑素和生长激素联合防治急性坏死性胰腺炎肺损伤的研究.中华实验外科杂志,1998,15(5):404
37 葛志强,吕维富,高春瑞,等.急性出血坏死性胰腺炎心肌及冠状动脉的超微结构改变.中华实验外科杂志,1998,15(5):406
38 马伏钢,华积德.从死因分析重型胰腺炎的处理要点.实用外科杂志,1991,11:80
39 田雨霖.急性胰腺炎重度判断标准及其预后估计.实用外科杂志,1992,12:618
40 贾玉杰,裴德恺.急性重型胰腺炎病因和发病机理的研究进展.实用外科杂志,1992,12:655
41 金凤麟,谢恩洪.胰性脑病3例报告.苏州医学院学报,1995,15(2):270
42 毛棣华,肖东,汪源长,等.坏死性胰腺炎胰和胰外脏器病理组织学和超微结构实验观察.苏州医学院学报,1995,15(3):413
43 蒋敏.胆源性胰腺炎42例临床分析.苏州医学院学报,1995,15(3):458
44 张培明.胆石性胰腺炎的病因与诊断.医师进修杂志,1986,5:56
45 李冰清.急性出血坏死性胰腺炎42例的诊断探讨.苏州医学院学报,1995,15(3):541
46 松仓丰治.尸检例中胰腺出血的出现率.日本法医学杂志,1961,15(4):307
47 黄光照.尸体现象:猝死.消化系统疾病.见:郭景元主编.法医学.第2版.北京:人民卫生出版社,1993.21~22,142~143
48 Aho HJ, Nevalainen TJ, Lindberg RLP, *et al*. Experimental pancreatitis in rat, the role of phospholipase A in Sodium taurocholate – induced acute hemorrhagic pancreatitis. Scan J Gastroenterol, 1980, 15: 1 027
49 Spormann H, Sokolowski A, Letko G. Effect of temporary ischia upon development and histological pattern of acute pancreatitis in the rat. Pathol Res Pract, 1989, 184: 507
50 Hand BH. An anatomical study of the choledochoduodenal area. Brit J Surg, 1963, 60: 486
51 Gradwohl RBH. Legal Medicine. Mosby: St Louis, 1954
52 Fatteh A. Handbook of Forensic Pathology. Lippincott: Philadephia, 1973. 245
53 Williams G. Acute pancreatic necrosis as a cause of sudden death. Brit M J, 1954, (1): 1 184
54 Zumwalt RE, Fierro MF. Postmortem changes. In: Forede R, ed. Handbook of Forensic Pathology. Northfield, Illinois: Published by College of American Pathologists, 1990. 80
55 Kissane JM, Lacy PE. Pacreatitis. In: Kissane JM, ed. Anderson's Pathology. 8 th ed. ST. Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company, 1985. 1 237~1 239
56 Moritz AR. Classical mistakes in forensic pathology. Amer J Clin Path, 1956, 26: 1 383

第十四章 医疗纠纷与医疗事故

张益鹤

医疗纠纷与医疗事故近年来在国内外均呈上升趋势。随着我国社会主义法制的不断完善和广大群众对健康水平的要求提高，医疗纠纷日渐增多，在不少地方已成为影响正常医疗秩序和社会安定的一个重要因素。因此，医疗纠纷与医疗事故的正确处理，不仅关系到医患双方合法权益的维护，而且在一定程度上也关系到改革开放社会大环境的维持。当前医疗纠纷和医疗事故处理办法的不够完善和处理体制的弊端，使改革处理医疗纠纷和医疗事故办法的呼声日益强烈，各级政府也十分重视。其中法医介入医疗纠纷和医疗事故的处理，已成为广大群众的迫切要求和各界人士的共识。医疗纠纷和医疗事故的鉴定已成为法医学鉴定的主要任务之一。但是，由于在我国医疗纠纷和医疗事故的处理历史中，法医长期被排斥在鉴定体制之外，即便有的地方法医作为个人被邀请参加当地的医疗事故技术鉴定委员会，大多也只是处于一种被动或从属的地位，没有充分发挥法医在医疗纠纷和医疗事故鉴定中应该具有的重要作用。改革后的医疗纠纷和医疗事故处理办法中，法医的作用肯定会加强。鉴于医疗纠纷和医疗事故的鉴定较之其他刑事或民事伤害案件的法医学鉴定具有其特殊性和更大的难度，要求法医必须提高自身的政治和业务素质，才能胜任这一鉴定工作，从而不辜负广大群众的信任和期望。

第一节 医疗纠纷与医疗事故的概念

一、医疗纠纷的概念

医疗纠纷(medical tangle)，指医患双方因对诊疗过程中发生的不良医疗后果及其产生的原因认识上不一致而发生分歧或争议，且这些争议必须通过卫生行政管理部门或司法机关进行诉讼处理。显然医疗纠纷的主要原因是在诊疗过程中产生了不良医疗后果。这种不良医疗后果依程度不同可分为患者死亡、残废、组织器官功能障碍或其他损害和损失。而且这些不良医疗后果是在门诊或住院时检查、治疗、护理等过程中发生的。医疗纠纷发生的原因主要是医患双方对不良医疗后果产生的原因有认识分

歧。常见患方认为是因医疗过错所致，而医方予以否认。其实，不良医疗后果既可能是医方诊疗过程中的过失所致，也可能是疾病的自然转归或其他各种非医方的原因引起。只有其中因诊疗过失而产生的严重不良医疗后果才是医疗事故。因此，医疗纠纷不等于医疗事故。有时，即便是医疗事故，但医患双方认识上并无分歧，或在开始虽有分歧，但经过协商消除了分歧，或协商解决了矛盾，医患双方没有发生纠纷，或没有达到非通过行政手段或法律诉讼处理才能解决的程度，也不称为医疗纠纷。可以说，医疗纠纷包含了医疗事故，医疗纠纷不等于医疗事故。

二、医疗事故的概念

医疗事故（medical negligence 或 medical malpractice），指在诊疗护理工作中，因医务人员诊疗护理过失，直接造成病员死亡、残废或组织器官损伤导致功能障碍的情况。构成医疗事故必须具备下列条件。

1. 造成严重不良医疗后果的行为主体必须是医务人员　所谓医务人员，指经过考核和卫生行政部门批准或承认，并取得相应资格和执业证书的各级各类卫生技术人员。按国家卫生部规定，他们按业务性质可分为4类：①医疗防疫人员，包括中医、西医、卫生防疫、地方病及特种病防治、工业卫生、妇幼保健等技术人员；②药剂人员，包括中药、西药技术人员；③护理人员，包括护师、护士、护理员；④其他技术人员，包括检验、理疗、病理、口腔、同位素、放射诊断或治疗、营养等技术人员。除此之外，因为诊疗护理工作是一种群体性的活动，构成医疗事故的行为人，还应包括从事医疗管理、后勤服务等人员。虽然他们不是直接参与诊疗护理工作，但其过失行为可以直接或间接产生不良医疗后果。当然实际医疗事故的行为人绝大多数是上述4类专业卫生技术人员。

未经卫生行政部门批准，私自开业的非法行医人员，不论他是否接受过正规医药卫生教育，是否取得卫生技术职称，在诊疗护理过程中如发生上述严重不良医疗后果，不构成医疗事故，但可构成医疗纠纷，情节严重者可按非法行医罪处理。

2. 医务人员必须有诊疗护理过失行为　产生医疗事故的医务人员的诊疗护理过失必须是非故意的，或意外的，否则不再是医疗事故，而是故意杀人或故意伤害。这种过失包括疏忽大意的过失和过于自信的过失。疏忽大意过失指在诊疗护理过程中发生的，行为人的职称和岗位责任要求应当预见到和可以预见到自己的行为可能对病员造成危害，因疏忽大意未能预见到，或对于危害病员生命、健康的不当做法，应当做到有效的防范，但疏忽大意而未能做到，而出现了不良医疗后果。如不执行或不正确执行规章制度，不履行相应职责，推委、拒治危重病员；病史采集、病员检查草率马虎；擅离职守、延误诊治；盲目进行自己不能胜任的手术或技术操作，不请示上级或请人帮助；擅自做无指征或有禁忌的手术或检查等等。

过于自信的过失指行为人虽然能够或者已经预见到自己的行为可能给病员造成的危害后果，但轻信自己的技术、经验或有利的客观条件，因判断或行为上的失误致使不良医疗后果发生。

3. 过失行为必须同时具有违法性和危害性　违法性指过失行为违反了诊疗护理制度和技术操作规程。目前医学各科或各专业的绝大多数诊疗护理活动卫生主管部门都有成文的规章制度，供有关医务人员学习和执行，或在相关的教科书、参考书上载明。如内科、外科及其分支学科（普外、颅脑、泌尿、消化、创伤等）、妇产科、肿瘤科、放射科、急症科等诊疗常规以及护理常规。

危害性指其诊疗过失行为所造成的不良医疗后果，必须造成病员相当程度的实际损害，如造成病员死亡、残废，组织器官损伤导致功能障碍。残废指在治疗终结后，伤者全部或部分劳动能力的永久丧失。残废的确认和分级应按国家有关评定标准鉴定。组织器官功能障碍不仅要有客观的检查结果证实，而且也指经治疗后不能恢复的永久障碍。这是医疗事故与医疗差错的区别，后者造成的不良医疗后果较轻，没有达到上述损害程度。

4. 不良医疗后果与诊疗过失行为之间必须有直接因果关系　这是确定医疗事故的必要条件之一。

因为有时医务人员的诊疗过失行为并没有引起纠纷中的不良医疗后果，或者不良医疗后果由几种原因引起，而诊疗过失行为可能只是其中的间接原因。不良后果与诊疗过失行为之间的关系不能只看表面上的时间先后次序，而应从疾病的发生、发展直至死亡的进展中科学地进行分析、判断。

例1　某男，54岁，一日突发左上腹疼痛，呼吸困难2 h急诊入院。入院时神志半昏迷，并出现恶心、呕吐。家属否认既往有心脏病史及可疑中毒史。医生在一般体检时没有发现明显异常后，嘱做心电图检查和胸腹部X射线拍片检查，并抽血常规化验。在送做心电图检查途中患者突然晕倒在地，昏迷不醒，不久出现四肢抽搐。医生检查心跳和呼吸已测不出，即给以人工呼吸及胸外心脏按摩，抢救10 min无效，又给以电除颤及气管插管等抢救。持续近1 h无效，后宣布死亡。因临床死因诊断不明，死者家属怀疑诊治有误而要求尸体解剖。尸体解剖见死者患重度冠心病，冠状动脉左前降支及右冠状动脉粥样斑块病变Ⅲ～Ⅳ级，左前降支一Ⅳ级斑块内有明显新鲜出血，左心室心肌有急性缺血性改变；双肺急性淤血、明显水肿；其他重要内脏呈淤血改变。左侧胸部第3～4肋肋骨骨折，伴周围肋间肌出血。其死因显然是重度冠心病急性发作，斑块内出血伴急性心肌缺血，因病情发展迅速而严重，医生来不及明确诊断和及时抢救而猝死。左侧胸部肋骨骨折是在施行人工呼吸和胸外心脏按摩时用力过度而引起，虽是过失，但与该患者死亡的发生上没有直接关系，不应视为医疗事故。

例2　某男，63岁，一日因车祸从车内摔出，倒在地面，有短暂昏迷。即被送医院检查，当时神清，恶心未吐，生命体征稳定，左枕部头皮有一小血肿。急诊头部CT扫描平片未见颅骨骨折、颅内出血及脑挫伤征象。留医院观察室观察，并给以镇静、输液治疗。在输液近结束，外伤后3 h，伤者突然神志丧失，四肢抽搐。医生检查见瞳孔左＞右，呼吸浅慢，右侧肢体轻瘫。急诊开颅手术过程中心跳呼吸停止，抢救无效死亡。尸检见左侧大脑额叶内血肿4 cm×5 cm×3 cm，周围脑水肿明显，左侧海马钩回疝及小脑扁桃体疝形成。左侧背部擦挫伤及第3～5肋肋骨骨折，伴左侧胸腔积血400 ml。冠心病，左前降支粥样斑块Ⅳ级，右冠状动脉病变Ⅱ级；双肺急性淤血、水肿；其他内脏仅见淤血。主要病理诊断为左侧大脑额叶外伤性迟发性出血，伴脑疝形成；冠心病；左背第3～5肋肋骨骨折及左侧胸腔积血400 ml。该例主要死因显然是外伤性迟发性脑内出血，重度冠心病在死亡发生上也可能起了促进作用。医院对外伤性迟发性脑内出血未能诊断可以理解，因只注意了头部外伤，而忽视了冠心病及左侧背部外伤的检查，有一定过失。但导致死亡的直接原因是车祸所致外伤性迟发性脑内出血及由其继发的脑疝。冠心病在死亡发生上仅可能起了次要的和间接的作用，左侧背部外伤对死亡发生没有起作用，或者仅可能诱发冠心病急性发作。因此该例医疗纠纷不能鉴定为医疗事故，但医院在诊治上有一定过失，可以适当承担一定经济赔偿。

第二节　医疗纠纷的类型

一、医疗纠纷与医疗事故的类型

根据前述医疗纠纷和医疗事故的概念，我们可以认识到医疗纠纷涉及的范围很广，医疗事故仅是其中有严重医疗过失的一种，可以用简表的形式将医疗纠纷与医疗事故的类型及相互关系表示如下。

医疗纠纷
- 医源性医疗纠纷
  - 医疗过失纠纷
    - 重大医疗过失纠纷（医疗事故）
    - 一般医疗过失纠纷（医疗差错）
  - 医方其他原因引起的纠纷
- 非医源性医疗纠纷

（一）医源性医疗纠纷（iatrogenic medical tangle）

医源性医疗纠纷是指由于医院和医务人员方面的原因引起的医疗纠纷，它又可进一步分为2类。

1. 医疗过失纠纷（tangle from medical fault） 指医疗纠纷涉及的不良医疗后果是因为医务人员在诊疗过程中的责任过错或技术失误造成的。它可以发生在病员就诊的各个阶段和诊疗实施的各个环节。既可能是医务人员具体实施诊疗措施时的失误，也可能由于医院管理不当所致。后者像机械性地执行先交费、后治病的制度，而导致危重病员失去宝贵的抢救机会，黑龙江、新疆先后有几家医院因此而受到惩处；或者因医院后勤管理松懈，未能及时供电、供水、供血或供氧，而影响抢救措施的施行等。依照不良医疗后果的程度，又可将其再分为医疗事故和医疗差错。

（1）医疗事故（参见第一节） 按发生的主要原因和事故性质，医疗事故又再分为责任事故和技术事故。

【医疗责任事故】 医疗责任事故（medical negligence accident）是指医务人员违反诊疗规章制度，诊疗护理常规等失职行为引起的医疗事故。这里所指的诊疗规章制度和诊疗护理常规可以是行业标准，由卫生行政主管部门颁布的；也可以是各级医院根据自己实际情况参照行业标准制定而在内部发布执行的；还可以是约定俗成的。这些制度和常规是各类医疗单位及各级医务人员都应遵照执行的。由于多年来我国医疗卫生事业的进步，医院管理水平和医务人员责任心的不断增强，实际工作中医疗责任事故远少于医疗技术事故。

例3 某医生本来应为患者做积水左肾摘除术的，却将其正常的右肾摘除，使患者严重残废。不仅医院承受了很大经济损失，医生本人也受到严重处分。

例4 某化验员在给准备输血的患者做血型检验时不认真负责，边吃饭边与人讲话，结果导致判断失误，给患者输了错误血型的血，使其产生严重输血反应而死亡。

医疗责任事故按发生的部门不同，又可分为临床科室责任事故、医技科室责任事故、护理责任事故、麻醉科室责任事故、医院管理责任事故等，这里不再赘述。

【医疗技术事故】 医疗技术事故（medical technical accident）是指主要因医务人员技术过失所引起的医疗事故。这里所指的技术过失多见于医务人员由于诊疗技术水平的限制，如缺乏相应的知识能力和实践经验，或设备条件不够先进等，使诊断、治疗或护理上出现过错，发生了病员死亡、残废或器官功能障碍。这类医疗事故在实际中远比责任事故多见。认定是否技术事故的关键是判断事故责任人是否技术水平不够或技术水平低，应全面评价责任人的职称、学历、从事医疗工作的经验、对医疗仪器设备的性能熟练的程度等条件，与发生事故时所从事的实际医疗工作是否相适应。如果该责任人的技术条件对从事的具体医疗护理工作应当胜任，但实际不胜任和技术水平不够，而任意蛮干，则属于责任事故了。因此技术事故的责任人，在事故发生前根据其职称、学历、经验等应当能胜任的医疗护理工作，却由于实际能力或经验未能胜任，导致判断上和行为上的失误。

例5 某男孩，5岁。因阵发性腹痛2 h，伴恶心、呕吐，不发热、不泻，就诊于一家厂卫生室。按急性阑尾炎给以输液、抗生素等治疗无效，症状渐重，反复呕吐不止。继续按上述方法处理直至晚上8时，小孩神志渐不清，血压显著下降，抢救无效死亡。尸体解剖打开腹腔即见小肠扭转270°，扭转处上段肠管坏死、出血（照片图14-1）。由于经治医生缺乏对肠扭转及肠梗阻的诊疗经验而误诊误治，使完全能治愈的一般外科疾病导致死亡。

在医疗事故的鉴定实践中，单纯因责任或技术问题发生事故的是少数，多数医疗事故的责任人有责任方面的过失，又有技术方面的差错。鉴定时应根据在事故发生中的主要方面来进行判断。即主要因责任方面过失的定为责任事故；主要因技术方面差错的定为技术事故。有人将医疗事故再分为责任事故、技术事故、责任为主技术为次事故、技术为主责任为次事故，以及责任与技术不易分或不能分的事故。尽管如此，有时实际鉴定时仍感到十分困难。但是，不论是医疗责任事故还是医疗技术事故，无论采用哪一种分类方法，任何时候都要坚持具体情况具体分析的原则。同样的事故发生在不同的人，不同的医疗单位，其鉴定结论可能是不同的。

例6　某女孩，10岁。无明显诱因右下腹痛伴发热、恶心2 d，就诊于某市级大医院。以急性阑尾炎收住院。在询问病史时得知其曾于年前因脑积水行分流术，术后一般情况尚好。给以加强抗感染治疗无效，3 d后小孩出现昏迷。病房主任指示“必要时可行CT检查及降低颅内压治疗”。近10 h后见小孩仍昏迷不醒，双瞳孔已散大，才做CT检查。CT报告双侧硬脑膜下业急性血肿；第三脑室以上积水。再请脑外科会诊、转院，致使病儿脑组织受压时间过长成为植物人状态。显然，经治医生有诊疗责任过失及技术过失。

按医疗事故发生的单位和科室又可分为大、中、小医院，其他卫生机构及个体诊所的医疗事故。按照张益鹊对139例事故纠纷尸检的分析，最常发生医疗事故的科室，以外科、产科、麻醉科、儿科为多见。此与国外的报道相同。实际上任何一个科室，都有发生医疗事故的危险。相对来说，医院越小，越容易发生医疗纠纷和医疗事故。这不仅与那里的技术设备和诊疗水平较低有关，更与患者及其家属对他们的信任度低有关。反之，在大医院，有时即使是明显的医疗事故，也可能不被识别而不引起纠纷。依事故发生原因，还可分为诊疗事故、护理事故和管理方面的医疗事故。

医疗事故发生的原因很多，常见如下。

【医疗事故发生的原因】

1）诊断错误或延误　是最常见的事故原因，尤多见于小医院和个体诊所，那里医务人员一般技术水平较低，经验也较少，设备较欠缺或落后。

例7　某男，左膝被砖石砸伤致股骨内外髁粉碎性骨折及小腿上部捅创，出血较多。伤后2 h送入某县中医院治疗。清创缝合后给予骨折处克氏针经皮外固定。术后几小时患者即述左下肢疼痛，并逐渐加重；第2天皮肤色泽改变，出现淤斑；晚上左小腿外侧又出现张力性水疱及左下肢感觉缺失。患者家属多次向经治医生反映，未引起重视。第3天上午查房时才组织会诊，又认为是血管病变。请专家会诊后才认识到左下肢已缺血性坏死，不得不截肢。显然，经治医生对下肢缺血性坏死缺乏认识而未能做到早期诊断和早期治疗，导致了截肢的不良后果。

例8　某女，21岁，因家庭纠纷被其丈夫用剪刀刺伤两侧背部，当日就诊于某市级医院。X射线片示右侧血气胸。经闭式引流等治疗，症状缓解，17 d后出院。后经常上腹胀气不适、疼痛、恶心、呕吐、厌食，呕吐后症状缓解。因血清胰淀粉酶高，被诊断为胰腺炎。因上述症状反复发作，进食后加重，胃肠减压后减轻。反复住院治疗无效，身体逐渐衰弱。于外伤后5个月急性休克死亡。尸检见：陈旧性膈疝，膈肌裂孔大小3 cm×3 cm。胃及大网膜疝入左侧胸腔，胃显著胀气扩张，薄如纸，色苍白；胃内容物约1 000 ml，将左肺严重压缩；心脏向右移位至纵隔前。这样的误诊已有多起报道。

2）手术部位错误或操作失误　如将对侧健康器官摘除或手术；血管结扎松脱致出血性休克死亡（照片图14－2）；错误结扎肝总管致肝肾淤胆及肝肾综合征死亡（照片图14－3）；手术时损伤附近血管、神经或附近器官，导致急性失血性休克、神经麻痹、急性化脓性腹膜炎或胸膜炎等。

例9　某县妇幼保健院为某35岁妇女接生时，不正确使用过多催产素和按压子宫助产。婴儿产下后，产妇即呼吸急促，口唇紫绀，四肢冰凉，血压下降，阴道大出血。抢救无效，母子双亡。尸检见：盆腔、子宫周围出血及积血约1 200 ml，子宫外壁破裂长18 cm（照片图14－4、照片图14－5），镜检见肺羊水栓塞。其直接死因为急性失血性休克和羊水栓塞。显然系由于分娩时医生不正当使用催产素、按压子

宫及子宫破裂引起。

例10　某女，20岁，因夫妻矛盾自服安定约150片，半小时后被送往医院。洗胃后发现胃穿孔，又行修补及腹腔引流术。术后患者一直昏迷不醒，入院13 h后突然呼吸困难，抢救无效死亡。尸体剖验见：腹腔积液350 ml，并有较多食物残渣。血液毒物分析安定浓度为139 μg/100 ml血（致死血浓度2 mg/100 ml血）。显然其死因不是安定中毒，而是急性腹膜炎引起的感染中毒性休克。

再如做人工流产时行吸宫术，因操作失误致空气注入血管，引起孕妇空气栓塞死亡。尸检病理切片上可见脾、肝等脏器内有气泡存在（照片图14-6）。

近年日渐增多的因美容整形失误引发的医疗纠纷，大多由于手术操作失误或手术后继发感染。如文眉、文唇等面部美容手术而致毁容；隆胸致乳房萎缩、变形或切除；抽取脂肪减肥致体型丑陋等，为手术操作失误引起的医疗纠纷。

3）手术感染　如手术器械消毒不良、手术部位消毒不够、术后感染等。

例11　某先天性癫痫患者慕名到某省的一家大医院，由一著名脑外科教授为其做开颅手术治疗。术后1周，患者发热不退，严重头痛、恶心、呕吐，后昏迷，抢救无效死亡。尸检证实为化脓性脑膜炎致脑疝死亡。在这样的大医院和著名教授手术下发生这样的并发症，显然属于医疗过失。

4）术后异物残留　如纱布、手术器械残留。

5）麻醉药过量或麻醉操作失误　如腰麻时麻醉平面过高，硬脊膜外麻醉时穿破硬脊膜进入蛛网膜下隙，气管插管麻醉损伤气管或血管等。

例12　某女，28岁。因慢性胆囊炎拟切除胆囊，在气管插管行全麻时，多次插管未能成功。患者出现缺氧状态，静脉注射肌肉松弛剂后，再插管2次仍未成功。再做气管切开时，发现患者心跳已停止。抢救无效死亡。尸检见：喉头水肿严重；颈部气管左上侧软组织出血，范围9 cm×1.5 cm；气管上段2条破口，分别长2 cm和1.5 cm，呈撕裂状（照片图14-7）；破口伤及环状软骨及第1～3气管软骨；气管中下段直至左右支气管及其分支内大量凝血块堵塞（照片图14-8）；右肺萎缩，左肺及右下肺多发性出血斑，伴水肿和气肿。其死因明显为插管损伤气管引起的出血被吸入，导致急性窒息。

6）药物中毒或过敏　如有毒药物污染其他药物，药物过量，误用青霉素等致敏药物导致过敏性休克。有将剧毒的砷化物污染了其他中药；剧毒的草药乌头、马钱子、斑蝥等滥用过量；未做皮试注射青霉素致过敏性休克死亡等。

7）血型错配的输血或血液被污染　如因血型检验错误致输血反应，输入已被污染的血液或血液制品致严重的输血或输液反应；或被感染乙、丙型肝炎等。

8）护理疏忽或操作失误　如输错药物致严重中毒反应；肌内注射损伤坐骨神经；加压静脉输液误致空气栓塞；针灸过深损伤肺致气胸等，都有报道。

例13　某护士在给一8岁患儿做青霉素皮试时，该患儿因青霉素过敏性休克抢救无效死亡。究其原因，是该护士在配制皮试注射液时将青霉素浓度配错，高于应用浓度10倍，致使对青霉素过敏的患儿发生速发性过敏性休克死亡。

9）管理混乱　如抢救药品需要时没有，须输氧时无氧，抢救器械须用时无法使用，规章制度不全，组织纪律松懈等。

（2）医疗差错（medical error）　指由于医务人员的诊疗护理过失给病员的身体或精神造成了一定程度的损害或损失，但尚未达到医疗事故的程度。医疗差错也能引起纠纷，或者医疗纠纷以要求追究医疗事故形式开始，但最后仅评定为医疗差错。医疗差错的责任人也应承担对受损害病员的赔偿。

医疗差错本身按差错或不良后果程度又可分为以下2种。

1）严重医疗差错　指因诊疗护理过失使病员身体健康受到一定损害，延长了治疗时间，增加了病员身体或精神痛苦，但未造成其他不良后果；

2）一般医疗差错　指医务人员在诊病护理过程中，虽有过失行为（如一般发错药，打错针，发错化

验报告等），但未给患者的身体健康造成损害，无任何不良后果。

2. 医方其他原因引起的纠纷　指病员在就诊过程中，因出现不良医疗后果而与医务人员或医院发生了纠纷，但产生纠纷的根本原因并不在于诊疗护理过失，而是医方的其他原因。

（1）医务人员服务态度不良引起的纠纷　由于医务人员对病员和病员家属态度冷漠或语言生硬，对病员或其家属的有些要求不能解决又不做耐心解释，使病员和其家属对医务人员失去信赖，怀疑其业务能力和技术水平，因而一旦出现不良医疗后果，自然就会将其归咎于医务人员而产生纠纷。

（2）缺乏医疗保护引起的纠纷　医务人员在诊疗疾病过程中应遵守医疗保护的原则。医疗保护涉及许多方面，能有利于患者疾病的治疗和康复。如果忽视了医疗保护的原则，医务人员不负责任地谈论病员的病情，不仅会干扰正常的诊疗过程，有时还会导致医疗纠纷，那怕不良的医疗后果并不是因诊疗过失引起。尤其是在病床前、手术台上、诊疗室内以及抢救过程中，当着病员或家属的面埋怨其他医院或医生，对其他不同的诊治方法随意发表议论等，很容易使病员和其家属怀疑有诊疗护理失误而导致纠纷。

例 14　某市一医院救护车接一孕妇，在车上分娩一女婴。随车医生未看清婴儿性别即向产妇说恭喜她得了一儿子。当第 2 天护士抱该女婴给产妇喂奶时，产妇见是女婴，拒不接受。恰巧同病房有一高干子女生一男孩，该产妇认为将她的男孩调给了那位高干子女。将该女婴丢给医院几年不管，并且诉之法律，官司打了几年，在当地影响极大。最后依靠法医亲子鉴定才承认领回抚养。

（二）非医源性医疗纠纷

非医源性医疗纠纷（noniatrogenic medical tangle），又称非医疗过失纠纷，指不存在诊疗护理过失的前提下，由于病员或其家属缺乏医学常识，对医院的有关规章制度不理解或其他因素引起的医疗纠纷。非医源性医疗纠纷多见于疾病急骤恶化而发生出人意料的猝死；或因病情特殊、复杂而产生的不良医疗后果；或由于病员体质特殊而出现的难以预料的并发症或医疗意外；也可由于病员或其家属不配合治疗，不遵守医嘱而发生的不良后果；甚至由于赔偿心理支配或社会不良因素的影响，而与医务人员发生纠纷等。

1. 疾病的自然转归导致的纠纷　虽然现代医学已经取得了很大的进展，但是仍然有一些疾病尚未被人们彻底认识，缺乏早期诊断方法和治疗手段；有些疾病虽然能被诊治，但由于病员方面这样或那样的原因，未能及时就诊，或者就诊时症状和体征没有表现出来，或者虽有表现但不典型；或者有些疾病的病情特别复杂，或十分罕见而未被正确诊治；或者有些疾病发展特别迅速，还没被检查和治疗就急骤发生死亡等。这些情况下发生的不良医疗后果应认为是疾病的自然转归。但病员和其家属由于缺乏相应的医学常识，一旦出现这种不良医疗后果，常会想到是医务人员的过失引起。这些疾病一般都是罕见的和少见的疾病，或临床症状和体征尚未被认识、也无有效检测手段能诊断。

例 15　某产妇在分娩后不久，全身出现严重黄疸，随后肝肾功能衰竭而死亡。尸检病理诊断为产后溶血性尿毒症，这是一种罕见的产后并发症。

例 16　一腋下脓肿患者在切开排脓治疗后继发败血症致感染中毒性休克而死亡。尸检取心血培养有白色念珠菌生长。此为平时并不致病的一种真菌，显然属难于预料和防范的并发症。

不少心血管疾病（如冠心病、心肌炎、心肌病、高血压、脑血管畸形等）患者，那怕病情已发展到相当严重的程度，但并未出现明显的临床症状和体征，或者即使已有一定症状或体征而未被病员和其家属认识和重视。一旦病情恶化，进展十分迅速，可以在很短的时间内死亡，法医学上称其为猝死。此时不仅病员家属不理解，甚至连其经治医生也可能认为死因不明，提不出具体的死因诊断，这时医疗纠纷自然不可避免。

例 17　某男，28 岁，工人，因餐后右上腹疼痛、恶心、呕吐，以胆道蛔虫被收入院。入院后阵发性腹痛，并不断加剧，后变为绞痛性，呼吸困难，心率减慢。入院 4 h 后尖叫一声，呼吸心跳停止而死亡。当地法医解剖发现心脏有一破口，右胸腔内大量积血，认为是心脏外伤性破裂引起。但患者家属否认曾有

外伤史。复查见心脏破口为锐器所致，但无生前出血征象及胸壁损伤，分析为尸体解剖时误伤所致；而纵隔障内发现明显出血，胸主动脉外膜有 3 cm 长不规则裂口；镜下见胸主动脉中膜黏液样变性、灶性钙化、分离及灶性坏死，左心室内膜下出血及灶性中性粒细胞浸润；其他脏器普遍贫血。结论为胸主动脉先天性夹层动脉瘤自发性破裂致右侧重度血胸死亡，为猝死。这种先天性主动脉瘤破裂猝死作者已尸检数例。

例 18　一 45 岁妇女因故在家切腕自杀未遂，被家人送入某市级医院住院。数小时后面突然死亡，家属怀疑医院治疗有误而引起纠纷。尸检见：心包内大量凝血块填塞（照片图 14－9），升主动脉外膜距起始端 1 cm 处有一 3 cm×1.5 cm 的破口，内膜距起始端 1.7 cm 处还见 2 条分别长 1.5 cm 和 1.7 cm 的破口（照片图 14－10）。主动脉镜下所见同上述例 17，因先天性主动脉瘤破裂致急性心包填塞猝死。

呼吸系统疾病引起短时间内死亡的也不少见，尤其是婴幼儿，不少在就诊时疾病已发展到严重期，死亡率自然很高。此外，有些能致死的疾病（包括某些肿瘤），在其疾病进展期未能被认识，失去了抢救的机会。

例 19　某女，35 岁，工人，以头昏、头痛、恶心 2 d 就诊。在检查时因见其精神差，进食也少，给予静脉输葡萄糖液等，2 组各 500 ml。在输第 2 组液约 5 min 时，患者突然面部潮红、口吐白沫、神志不清、心跳停止死亡。尸检病理诊断大脑左颞叶星形胶质细胞瘤，大小 4.5 cm×4 cm×1.5 cm，合并出血及水肿，左侧海马沟回疝及双侧小脑扁桃体疝形成，致中枢性呼吸及循环功能衰竭死亡。

在这些疾病的诊治过程中，医务人员也可能存在这样或那样的失误，但不是死亡的直接原因或主要原因，或者说死亡与医疗过失没有直接和必然的因果关系。这种纠纷在非医疗过失纠纷中常见。张益鹊在其 27 年医疗纠纷法医尸检回顾性研究中报道，206 例非医疗过失纠纷尸检中，因疾病自然转归死亡者有 111 例，占 53.88%，相当一部分在尸检之前临床诊断为死因不明。

值得注意的是即使在上述情况下，有时仍然有医疗护理的过失，应该追究责任。如对急性发作的冠心病患者使用肾上腺素或麻黄素；过度搬动急性心肌梗死的患者；对有器质性心脏病的哮喘患者过量或过快静脉注射氨茶碱类药物；对已有明显肺水肿的患者输液过量；对高血压患者不恰当地使用能升高血压的药物，如口服避孕药或降压过快等，都可以因失误导致死亡发生。

例 20　某男，35 岁，工人。一日因急性酒精中毒至一私人诊所就诊，给予输液和抗生素治疗 3 h 无效。神志继续昏迷，且血压下降，心跳和呼吸突然停止。在抢救过程中给以肾上腺素 1 mg 肌内注射，人工呼吸及胸外心脏按摩 30 min 无效而死亡。所用葡萄糖液为过期产品，肾上腺素系从个体药贩处购买。尸检病理诊断为重度冠心病，病变 3～4 级伴斑块内出血及新鲜血栓形成；急性酒精中毒。虽然患者主要因重度冠心病急性发作猝死，但这位医生也有过失。因为即使重度冠心病也不是完全没有救治方法。除了他未能正确诊断治疗外，不正确的输液、注射肾上腺素、人工呼吸及胸外按摩、未给氧等是技术过失；使用过期葡萄糖液及来源不当的肾上腺素就是责任过失了。

2. 难以避免的并发症导致的纠纷　指目前医疗技术尚难以避免和预防的并发症，由其引起了不良的医疗后果。这是非医疗过失纠纷中第二位常见的原因。认定此类纠纷性质的核心是疾病的并发症是否难以避免。只有公认的目前难以避免的并发症导致的不良后果，才能不认定为诊疗护理的过失。这样的并发症不少，在实际工作中较常见的有分娩过程时发生的孕妇羊水栓塞；较长时间卧床治疗病员发生的肺动脉栓塞；主动脉夹层动脉瘤或大片心肌梗死伴心脏破裂引起的急性心包填塞；非医疗因素引起的胎儿子宫内羊水吸入性窒息；新生儿羊水吸入性肺炎；肝、脾或大血管损伤破裂并发的急性失血性休克；重度颅脑损伤并发的脑疝；重度急性中毒并发的呼吸或循环衰竭等。

例 21　某男，36 岁，工人，因股骨上段开放性粉碎骨折住院治疗 20 d 后，行手术复位，髓内针固定加钢丝内固定。手术中出血约 800 ml。手术尚未结束，患者突然出现呛咳、呼吸困难，同时血压下降，心跳停止，抢救无效死亡。尸检见：肺动脉有一直径 0.7 cm 的血栓阻塞于管腔内（照片图 14－11、照片图 14－12），直至肺内肺动脉分支；血栓长达 22 cm；并见左下肢静脉血栓形成。结论为下肢静脉血栓脱落

致肺动脉栓塞而猝死。这为难以预料和治疗的并发症。

在鉴定这类纠纷时尤应注意具体情况具体分析，有些病员在就诊时其致死性并发症已难以避免，如严重损伤继发的急性失血性休克、主要器官功能衰竭；若就诊及时，则应能避免。在张益鹤报道的27年医疗纠纷法医尸检回顾性研究中，同是急性失血性休克，有92例鉴定为难以避免的并发症；42例鉴定为责任事故；10例为技术事故。同是感染中毒性休克，13例鉴定为难以避免的并发症；6例为责任事故；17例为技术事故。有的致死性并发症对小医院或私人诊所来说，可能是难以避免的，但在大或中等医院则可以是能够避免的，如急性心力衰竭、肾功能衰竭等。即使一般认为是难以避免的并发症，有时也可能是由于诊疗护理过失而引起。如羊水栓塞，一般将其列入难以避免的妊娠并发症，死亡率很高。但是如果催产素使用不当、或分娩时过度按压产妇子宫催产（例8）、或粗暴手法引产导致子宫不全破裂，这些失误都可以成为羊水栓塞的真正原因。羊水栓塞的死亡率虽然较高，但死亡率并不是100%。发生后，如抢救处理不及时或不当，也可使非致死性羊水栓塞导致死亡。上述所列的其他常见的难以避免的并发症，同样也存在着类似的问题。

很多死亡的直接原因，即直接死因，都是某种疾病或损伤的并发症，而这些并发症一般医疗单位的医务人员，尤其是高年资的医务人员应能预见并设法避免的。如果没有能采取正确的医疗措施避免，或者采取的措施不力或过晚，导致了病员因此而死亡或残废，则显然是医疗事故。不能以疾病的并发症来搪塞病员及其家属对医疗过失的指责。

3. 医疗意外导致的纠纷　医疗意外（medical accident），指受目前医学科学水平所限，或因病员体质特殊，在正常诊疗护理过程中出人意料之外发生的不良医疗后果。由于其发生突然和出乎病员及其家属意料之外，是引起医疗纠纷的又一较常见的原因。其中过敏性休克最为常见。这时的过敏性休克特指那些按诊疗护理常规不需事先做过敏试验的药物，按通常治疗剂量和使用途径使用后出现的过敏性休克。这是由于病员的体质特殊引起的。如医务人员诊断和抢救及时，仍发生了不良后果，则不能视为医疗过失。有的人在正常做青霉素皮试时，当小剂量低浓度的青霉素溶液注入前臂皮下，在观察反应期内即发生了速发性过敏性休克，又因程度严重未能抢救过来而死亡，则为医疗意外。但是，如皮试使用的青霉素液浓度较高，或对反应观察错误，则为医疗事故。有的在外科手术麻醉时，所使用的麻醉药按常规方法常规剂量给予后，也发生了过敏性反应，称之为麻醉意外。这样类似的情况，也可能见于口服药物甚至外用药物时，不过一般后果不会太严重。

诊疗检查和外科手术时，有少数病员在气管插管，肛门或阴道指诊，导尿，宫颈扩张或牵引，胸或腹腔穿刺，手术牵扯腹膜、心包或脑膜等时，可能发生神经反射性的心跳骤停而死亡，是因为患者体质特殊发生的、难以预料的医疗意外的另一类型，国内外都有病例报道。

例22　某28岁胆囊结石患者，在做腹腔镜胆囊结石取出术后，医生缝合皮肤时突然呼吸心跳停止，抢救无效死亡。尸检见：腹腔无积血，脏器无损伤；主要脏器也未检见能解释死因的病变；排除了麻醉等可能的意外和过失，鉴定为死因不明的医疗意外。分析可能是神经反射休克死亡。

例23　一18岁女青年，因未婚先孕，在一家私人诊所做人工流产，医生给其扩宫时突然心跳停止死亡。医疗事故鉴定委员会曾结论为肺结核猝死。法医复核鉴定时考虑到其肺结核程度不重，亦无能致死的并发症和其他能解释死因的病变，结合死亡经过，更正为神经反射性心跳骤停意外死亡。

由于病员脏器组织的畸形或部位变异，超过了正常可预见的范围，而在手术时被损伤或误摘，多数情况下也应视为一种医疗意外。甲状旁腺的正常解剖位置应在颈部甲状腺的附近，如果异位到口咽部、胸部等，则一般难以被医务人员预见。又因为它们本身很小，当这些部位做其他手术时，很有可能被误切掉而导致甲状旁腺功能低下。

在紧急情况下为抢救垂危病员生命，而无法按常规采取的急救措施所造成的不良医疗后果，也是医疗意外的一种类型。不过事先应向患者或家属交代清楚。如人工呼吸或胸外心脏按摩所造成的肋骨骨折、胸腔积血、肝脏破裂；紧急气管插管所引起的咽喉部挫伤等。

4. 其他意外导致的纠纷　指病员在医疗单位诊疗过程中，由于非医疗方面的原因发生的意外事件导致的不良后果（不一定是医疗后果）。如由于家长缺乏经验，在给新生儿喂奶时将牛奶误灌入小儿气管而导致的急性窒息死亡；又如住院治疗的小儿将异物误吸入气管或支气管内而发生的异物堵塞窒息；家属护理昏迷病员时缺乏经验，因呕吐物或黏稠分泌物堵塞病员气管或支气管而窒息；病员因病情突然发作或其他原因而意外高坠或烧（烫）伤；病员因医疗以外的原因（如自杀或意外）而中毒等。此时在许多情况下因原因不清或病方故意隐瞒真相，一旦出现不良后果，则与医方发生纠纷。

5. 病员及家属过失导致的纠纷　这些不良的医疗后果不是因为医务人员诊疗护理的过失，而是因为病员或其家属本身的过失引起的，但由于这样或那样的原因也能导致医疗纠纷。如病员或其家属有意或无意隐瞒病情或病史；或无故拖延或无故不交医疗费，或者因其他原因而延误治疗；或不配合治疗、不遵照医嘱；或私自请其他人诊治又向医务人员隐瞒情况等而导致的病员死亡、残废或器官功能障碍。

再如非精神病病员在诊疗期间发生的自杀、自残、他杀和意外伤害，导致病员死亡、残废或功能障碍的。

例 24　某女，因纠纷被他人致伤，在住院期间病情逐渐好转，拟出院的前一天，突然强烈阵发性抽搐，接着剧烈恶心、呕吐伴腹痛，不久昏迷，多方抢救无效死亡，引起医疗纠纷。法医解剖并未检见能解释死因的病变和发现明显医疗过失。提取胃内容物和心血送作毒物分析，报告检出毒鼠药“毒鼠强”。后经调查为其丈夫投毒，得以将真相澄清。

以上是常见的类型，实际工作中可能还有其他情况。

二、医疗事故的分级

为了便于处理，根据医疗事故给病员身体健康造成损害的程度不同，将其进行分级。按卫生部 1988 年 3 月 30 日颁布的《医疗事故分级标准（试行草案）》将医疗事故划分为三级。正在讨论修订的《医疗事故处理办法》又将其划分为四级。分别介绍如下。

（一）四级划分方法

1. 一级医疗事故　指造成病员死亡、重度残疾的。

2. 二级医疗事故　指造成病员中等残疾、组织器官损伤导致严重功能障碍的。

3. 三级医疗事故　指造成病员轻度残疾、组织器官损伤导致一般功能障碍的。

4. 四级医疗事故　指造成病员组织器官损伤，导致一过性功能障碍的。

其中重度、中度及轻度残疾的具体标准尚待卫生行政部门制订。

（二）三级划分方法

1. 一级医疗事故　指造成病员死亡的。

2. 二级医疗事故　指直接造成病员严重残疾或严重功能障碍的。

又再分为甲、乙两等。

A. 造成以下之一情形为二级甲等医疗事故。

（1）植物人；

（2）昏迷、临床确认不可恢复者；

（3）痴呆；

（4）严重智力障碍；

（5）双目失明；

（6）双目视力小于 1 m 指数，经治疗不可恢复者；

（7）缺失一侧眼球；

（8）胃、肠或膀胱等永久性造瘘；

(9)主要器官受损,需依赖药物或器械维持功能,临床确诊不可恢复者;
(10) 双手截肢;
(11)双上肢功能全废;
(12)一足一手截肢或功能全废;
(13)双下肢功能全废或严重障碍(含双下肢高位截肢,双髋关节强直,双膝关节强直);
(14)双足截肢;
(15)二便失禁,临床确认不可恢复者;
(16)截瘫或偏瘫,肌力不足三级者;
(17)慢性再生障碍性贫血;
(18)二级乙等事故2条以上者;
(19)其他相当上列情况者。
B. 造成下列之一情况,为二级乙等医疗事故。
(1)视力、视野较严重损害,丧失部分工作和生活能力;
(2)两耳全聋;
(3)误摘一侧肾;
(4)肾损害,临床确诊功能不全者;
(5)偏瘫,肌力三、四级者;
(6)脊柱侧弯30°以上;
(7)脊柱后凸或成角30°以上;
(8)原有脊柱、躯干或肢体畸形,又严重加重者(除外脊柱结核灶清除畸形加重者);
(9)双下肢肌萎缩,肌力二级以下,依赖器械也不能维持功能的;
(10) 一肢截肢或功能全废;
(11) 未婚或已婚未育男女生殖功能丧失(包括育龄妇女子宫切除,其子女已亡者);
(12)具有三级甲等2条以上者;
(13)其他相当上列情形者。
3. 三级医疗事故　指直接造成病员一般残废或功能障碍的医疗事故,又可分为甲、乙两等。
A. 造成下列之一情形者,为三级甲等医疗事故。
(1)视力、视野损害但未丧失工作和生活能力;
(2)双耳听力明显减退(60 dB以上);
(3)声带或喉部受损伤,对发音有明显影响的;
(4)主要器官功能有改变(有临床及客观检查指标),但不需要借助药物或器械维持的;
(5)食管损伤,吞咽困难;
(6)致原正常尿道狭窄,排尿困难;
(7)育龄妇女子宫切除;
(8)脊柱或躯干畸形,功能有一定程度影响的;
(9)主要关节功能受一定影响,但基本可坚持正常生活和工作的;
(10) 缺失任何一手拇指;
(11) 除拇指外,其余四指中缺失任何二指以上;
(12)缺失任何一手两指及其掌骨;
(13)前臂强直;
(14)肩关节、腕、髋、膝、踝等任何一大关节活动度丧失达50%;
(15)肘强直,活动度小于90°或中立位活动度小于10°;

(16)其他相当上列情形者。

B. 造成下列之一情形者,为二级乙等医疗事故。

(1)主要器官受损后功能有一定改变,有临床症状和客观检查所见的;

(2)体腔或组织深部遗留纱布、器械需重新实施手术的;

(3)开错患者手术部位或器官造成组织、器官较大创伤的;

(4)缺失一足的全部足趾;

(5)其他相当上列情形者。

第三节 医疗纠纷的处理和鉴定

医患之间的法律关系是复杂的,他们之间有服务与被服务的关系,也有民事上的契约关系,以及消费与被消费的关系。一旦医生有意地去检查、诊断和治疗患者,就自动形成了上述关系,而不论患者此时是有意识还是无意识状态。现实的医疗条件和医务人员之间不同的技术水平与医德医风,同患者对医疗结果的期望之间,总会有矛盾。当出现了不良医疗后果时,不论是事实还是臆断,多会引起医疗纠纷或医疗事故的诉讼。这就决定了医疗纠纷的发生可以说是不可避免的。无论在国外或国内都是如此。美国大约有40%的医生在他们的职业生涯中会遇到这样或那样的医疗纠纷或医疗事故诉讼。实际上,医疗纠纷本身并不都是坏事,或者说只具有负面影响。医疗纠纷最终发生正面或负面的影响,取决于能否正确处理。正确处理好医疗纠纷可以维护医患双方应有的合法权益。如果因医务人员的诊疗过失而造成不良医疗后果,病员或其家属理应得到相应的合理赔偿;如果不良后果不是医务人员的诊疗护理过失而引起的,则医院和医务人员的合法权益又应受到尊重和维护,医院正常的医疗秩序和医务人员的人身安全不得因此受到侵犯。由于目前医疗纠纷处理办法的不合理,不是损害了病员的合法权益,就是医院和医务人员的合法权益没有受到保护。从一个方面反应了医疗纠纷(或事故)处理办法改革的必要性。医疗纠纷的正确处理,尤其是其中医疗事故的正确处理,对改进医院管理,提高诊疗护理技术水平,改善医德医风,最终提高医疗质量和医院经济效益,都有积极的作用。医疗纠纷的正确处理还能化解矛盾,减少和避免医患双方之间的冲突,有利于维持正常的医疗秩序和社会安定。

一、医疗纠纷的处理程序

(一)医疗纠纷的协调调解处理程序

1. 调查核实 当发生不良医疗后果时,一旦医患双方不能就不良后果及其发生的原因认识一致,或者不能就解决的办法达成谅解,就会发生医疗纠纷。当事的医务人员应及时向科室负责人报告,由科室负责人出面向有关人员(包括病员及其家属)了解情况、听取意见,并进行初步调查核实。同时应注意保存好有关的病历材料和物证(如未使用完的药品、液体、注射或输液、输血器械等)不被损坏或丢失,并尽快向本单位主管人员报告。个体私人诊所和联合医疗单位发生的医疗纠纷,则应向当地主管卫生行政部门报告,并接受调查处理。

2. 专家鉴定 基本事实清楚的前提下,医疗单位的主管人员应就纠纷的核心问题,组织本单位有关专家进行讨论或鉴定,尽快将讨论或鉴定意见告知病员或其家属,按照《医疗事故处理办法》的有关规定协商处理,即通常所说的"私了"。虽然有些人对"私了"存在非议,但因为医疗纠纷(包括医疗事故)绝大多数是民事纠纷性质,当事人有权自由处理。其前提是,不受任何组织或个人的强制,出于自己的意愿。这样可以不拘泥于法律,自愿履行,不易反复。即使是医疗事故,也可以经过双方协商处理。

3. 调解协商 当协商不能解决纠纷时,可以采取调解的方式。调解有4种形式:①行政调解:一般由卫生行政部门出面,在医患双方自愿的基础上协调双方的立场和要求,解决纠纷;②律师调解:由一方

或双方的律师出面进行调解；③仲裁调解；④诉讼调解。后2种调解按照法定程序由司法机关进行，一旦调解成功，调解协议具有强制执行的效力。上述4种调解方式达成的调解协议，一旦任何一方不执行调解协议，该协议就自动失效，调解人不能再强迫当事人执行。

4. 仲裁解决　协商和调解无效时，还可能采用仲裁解决的方式。仲裁指由地位居中的民间组织，依一定的规则对纠纷进行处理，并做出裁断的解决纠纷的方式。这种方式不同于司法诉讼，它的优点在于：①当事人的自主权较大，仲裁机构的选择不受行政区域的限制，当事人可以选定仲裁员；②素质较高且专业化较强的仲裁员有利于纠纷公正合理地解决；③仲裁程序比较灵活，审查时间短，有利于纠纷的快速解决。

通过仲裁方式解决医疗纠纷时，按我国仲裁法规定，双方应事先达成仲裁协议后才能申请仲裁。仲裁协议必须包含：①双方共同选择的仲裁委员会；②要求仲裁的事项，即要求仲裁解决的纠纷内容。仲裁委员会虽是民间组织，但依仲裁法规定，其仲裁实行一裁终局制。裁决一经做出，即发生法律效力，当事人不得再就裁决问题向其他仲裁机构请求复议或重新申请仲裁，也不得向法院提起诉讼，更不得请求其他机关、组织或个人更改裁决。医疗纠纷的仲裁解决较其他解决有较多的优越性，是一种值得推广的方式。

（二）医疗纠纷处理的行政程序

处理医疗纠纷是医疗机构及卫生行政部门不可回避的一项经常性的工作，也是医疗行政部门对医院进行管理的重要组成部分。多年来，我国医疗纠纷常以卫生行政部门处理为主。卫生行政管理部门对医疗纠纷的处理兼有行政调解和法律仲裁的性质。医疗纠纷不能通过前述方法协商和调解时，一般应向当地卫生行政部门申请医疗事故鉴定，卫生行政部门组织有关专家组成医疗事故技术鉴定委员会对纠纷进行鉴定，并提出鉴定结论，卫生行政部门根据鉴定结论做出对纠纷的处理。纠纷双方中任何一方对鉴定结论和处理决定不服的，可以向上一级卫生行政部门申请复议，或者向当地人民法院提出起诉。但在实际执行中，当事人（主要是病员及其家属）往往顾忌卫生行政部门对下属单位的行业保护，而不愿申请复议。又因为他们主要提出赔偿要求，而不一定要求做出是否医疗事故的鉴定，故通常转而向法院起诉，而不要求卫生行政部门复核鉴定或处理。

（三）医疗纠纷处理的诉讼程序

医疗纠纷处理最核心的问题是损害赔偿问题，如何正确地开展诉讼程序有时会直接影响纠纷的正确处理。我国对这一问题目前尚无明确统一的全国性法规可以引用。有的省市法院可以直接受理病员及其家属就医疗纠纷提出的损害赔偿诉讼请求，而无须经过卫生行政部门先进行是否医疗事故的技术鉴定。一旦通过调查和技术鉴定（通常为法医鉴定）认定医务人员在诊疗护理过程中有过失，并且病员的身体健康损害是由医疗过失直接造成的，不论是否达到医疗事故的鉴定标准，都可按照民事赔偿原则判决赔偿。另有一些省市的法院则不直接受理医疗纠纷的赔偿诉讼，要求先经过卫生行政部门进行医疗事故技术鉴定，不服鉴定结论时才能起诉到法院。目前由卫生行政部门组织进行医疗事故技术鉴定有其弊端，而且行业保护色彩太浓，广大群众对此意见很大。一些不构成医疗事故的医疗过失没有得到应有的赔偿，损害了病员及其家属的权益。由法院直接受理的处理程序可以避免或减少这些弊端，但是有些省市法院认为这样会严重增加他们的压力而无法完成。正在修订中的新《医疗事故处理办法》，也许能提出让广大群众满意的解决办法。新的医疗事故技术鉴定机构应挂靠在卫生局以外的相对中立的单位；技术鉴定成员应有权威性和公正性，其中的医学专家由专家库中按科别随机选择，但要实行回避制度；应有法医学专家参加；为了增加鉴定的透明度和公正性，要有人大代表、政协委员、新闻媒介的代表在场旁听，并可提出评论意见。

医疗纠纷的诉讼可以是行政诉讼，也可以是民事诉讼，甚至刑事诉讼。后者适用于要求追究重大责任事故当事人的刑事责任时。刑事诉讼时也可同时或另外单独提出民事诉讼而要求赔偿损失。医疗纠纷诉讼的对象可以是经治医生或护士，医院也可能成为被诉讼的对象。由于医疗纠纷的专业性极强，司

法机关的法官们一般缺乏相关的医学知识来判断诉讼事实中的具体问题。而且，医疗纠纷的诉讼更强调必须先举证，后立案。因此，通常要求法医先就医疗纠纷涉及的问题做出医务人员是否确有医疗过失，以及医疗过失是否与病员不良后果之间有直接关系的鉴定。只有当法医鉴定院方有医疗过失时才给以受理。也有先受理，后委托法医鉴定的。不过，一般整个诉讼程序历时较长，诉讼花费也较大。

医疗事故责任的承担，我国还没有统一的规定。目前，大多数仍由事故发生的单位（如医院）承担。有的单位让有关医务人员承担一部分赔偿；也有的地方实行医疗保险，由保险公司承担事故赔偿。但实际执行起来有不少困难。因为有的事故赔偿金额数量巨大，与医院的保险投保金额相去甚远，保险公司不愿承担。国外医疗事故的处理也存在同样的问题没有解决。

二、法医在医疗纠纷处理中的作用和地位

鉴于我国目前医疗纠纷处理办法的各种弊端造成了许多不良后果，不少因医疗过失而身体健康受到损害，甚至因而死亡的病员或其家属，因卫生行政部门主持的医疗事故技术鉴定委员会的不公正性对待，没能得到应有的赔偿，经济上和精神上都受到很大损失。他们的不断申诉不仅成为不少卫生行政部门的沉重包袱，而且在相当程度上成为影响社会安定的一个重要因素。有少数医疗纠纷的病方，破坏正常的医疗秩序或设施，甚至殴打和伤害有关的医务人员，侵犯医务人员的人身安全，造成了不良影响。医疗纠纷已成为广大群众和各级政府关注的热点问题之一。目前的医疗纠纷处理办法显然已不适合当前的情况，改革旧的医疗纠纷处理办法以及制订新的有关医疗纠纷处理的法律法规是广大群众的迫切期望。无论对改革的意见如何分歧，但要求法医参与医疗纠纷的处理是各界的共识。这是因为法医一般工作在公检法机关、高等院校和研究机构，相对于医患双方来说，他们处于第三者的地位，对医疗纠纷容易做到客观、公正；其次，法医是既懂医学知识，又具有法制思想和一般法律知识的医学技术人员，能够就医疗纠纷涉及的问题分清是非，做出比较公正的判断。法医究竟如何在医疗纠纷处理中发挥作用，各家对此还有不同的认识。一种意见，是在今后的医疗事故技术鉴定委员会中吸收法医参加作为鉴定人。其实在旧的医疗事故处理过程中，不少地方已有法医参加，事实证明这种方法是没有什么实际意义的。鉴定委员会中1～2名法医的意见很难受到重视。表决时他们往往处于绝对少数，不可能对最后的鉴定结论发生什么影响，因此仅仅起了一种陪衬或附属的作用。然而我国目前的情况是，大多数法医技术人员不可能单独承担起当地医疗纠纷或医疗事故鉴定的责任。尽管如此，今后医疗纠纷处理或鉴定机构中，法医的作用应该切实加强，以发挥他们别人不能替代的特殊作用。

在法院直接受理的医疗纠纷诉讼案件中，法医鉴定的作用显得更为重要。不少法院常常将其视为受理的前提条件。只有法医鉴定病员的身体损害由医疗过失造成时，才能被受理立案。这时的法医鉴定不应只是1～2个法医的个人行为。受理鉴定的法医既要认识到医疗纠纷与平时刑事和民事伤害案件鉴定相比较的特殊性和复杂性，又要意识到鉴定的责任重大。他们应在全面掌握有关事实的基础上，查找相应文献，邀请与纠纷无关的医学专家讨论，最后独立地分析判断，作出鉴定。鉴定时要对病员的身体损害与医疗活动的关系进行评判，即是否有医疗过失，以及医疗过失与不良后果之间有无直接因果关系进行分析。如果两者有直接因果关系，还要对医疗过失在造成不良医疗后果中的参与度进行具体分析和评估，为最后的赔偿裁定提供科学证据。这是显著不同于一般医学鉴定之处，也是其他非法医学鉴定所不能完成的鉴定内容。目前我国尚需这方面的法规以便鉴定时遵循。在未有相应法规之前，可以参考日本人渡边富雄提出的赔偿医学中的"事故参与度"的判定原则和方法。①如确实能证实患者死亡或伤残与医疗过失无关，则医务人员无责任，医疗过失参与度为0%；②如医疗过失只是诱发疾病恶化而致患者死亡或伤残，或只是间接促使疾病恶化而致患者死亡或伤残，则医疗过失参与度可评定为10%；③如医疗过失可能导致患者死亡或伤残，但其远不如疾病或患者本身的原因（包括年龄、健康状况、病情、就医过晚等，下同）引起死亡或伤残的可能性大时，医疗过失参与度可评为20%；④如死亡或

伤残的主要原因中疾病或患者自身的因素多于医疗过失时，医疗过失参与度可评为30%～40%；⑤如患者死亡或伤残的原因中，不能分清医疗过失与患者自己责任大小时，医疗过失参与度可评为50%；⑥如患者的死亡或伤残原因中，医疗过失为主要原因，患者自身的原因只是次要原因时，医疗过失参与度可评为60%～80%；⑦如患者的死亡或伤残原因中，患者自身的因素只是很次要的因素，医疗过失参与度可评为90%；⑧如患者的死亡或伤残完全由医疗过失引起时，医疗过失的参与度应评为100%。

尽管如此，每一例医疗纠纷的法医学鉴定都没有固定的规则可以照搬，实际鉴定时必须遵循具体事情具体分析的原则。如不可避免的并发症与应该可以避免的并发症、医疗意外与操作失误、医疗事故与医疗差错、技术事故与责任事故之间并没有绝对的分界线。只要我们在鉴定实践中，真正做到公正、科学、准确、客观，我们在医疗纠纷与医疗事故鉴定的实践中，就会不断积累经验，增长才干，逐渐树立起自己的权威性。要做到这一点，除了坚持法医应有的职业道德外，重要的是要注意在实践中学习和善于学习，积极学习有关的临床医学的新知识、新技术，向一切内行的人学习，并不断总结经验和教训。

三、尸检在涉及死亡的医疗纠纷处理中的作用

涉及死亡的医疗纠纷在各类医疗纠纷中是最常见和最重要的。在这类纠纷的处理中，无论医患双方是协商调解解决，还是提请鉴定和诉讼，为了分清是非，必须首先查明死因。而尸检是查明死因最直接和最有效的手段。这是因为仅通过临床观察和检查，即使在检测手段与技术已十分先进的今天，不少疾病仍不能被临床医生所认识和诊断，况且不少医疗纠纷中病员的死亡发生在门诊就诊过程中或住院治疗不久，全面的身体检查尚未开始或刚刚开始。病员死亡后临床医生常提不出临床死因诊断。张益鹄报道的139例医疗纠纷尸检中，33例临床诊断死因不明；余下的106例中，临床死因诊断与尸检死因诊断符合的仅32例(30.19%)；基本符合的27例(25.47%)；有47例(44.34%)不符合，或者说临床死因诊断错误。因此，1987年国务院《医疗事故处理办法》第十条规定"凡是有条件进行尸检的地方必须进行尸检"。我国目前绝大多数县以上地方都有尸检的条件，县以下医疗单位发生的死亡一般也可在不太长的时间内送到县，或邀请县一级尸检病理人员前去尸检。可是，我国目前涉及死亡的医疗纠纷的尸检率还不高，其原因可能是多方面的。除了思想保守、不相信科学之外，纠纷双方对尸检的重要性缺乏足够的认识和害怕尸检结果于己不利而故意拖延或拒绝尸检是一个重要原因。要想提高涉及死亡的医疗纠纷鉴定质量，必须提高尸检率。

卫生部1988年在《关于〈医疗事故处理办法〉若干问题的说明》中指出"尸检对判明死因具有特殊意义，它除了可给医学技术鉴定和司法裁决提供直接的证据外，还可以为医务人员诊疗护理实践进行反馈和检验，从而达到明确诊断，分清是非的目的"。此外，尸检有时还能直接认定或排除有无诊疗护理过失，有的尸检一结束，纠纷中的是非就明确。此外，通常尸检鉴定需要一个过程，客观上也可使一些矛盾激化的纠纷暂时降温，有利于纠纷双方的协商调解。

由于前面已经讨论过的法医职业特点，法医病理技术人员常年尸检经验的积累，以及目前一般医院病理医生较少从事系统尸体解剖与诊断的事实，使法医病理尸检在处理涉及死亡的医疗纠纷时具有他人无法可比的重要性。

为了做好医疗纠纷的法医尸检，建议：①尸检之前应向医患双方了解有关情况，同时听取双方对纠纷中提出问题的陈述，以明了尸检的重点；②尸检前要获得有关病历资料，浏览其中主要材料，核对双方的陈述及审查病历材料的可靠性，并复印其中的重点部分以备查；③尸检时要求双方派代表见证，以示尸检的公平、公正和公开，增加双方对尸检的信任度和对尸检的监督；④医疗纠纷尸检要较之其他尸检更系统和全面，注意提取适当检材，及时送做病理组织学、细菌学、免疫学、理化检验和毒物分析等，必要时还应注意做相关的特殊检查，如空气栓塞、肺动脉栓塞、气胸等检查。

第四节　医疗纠纷各种责任的确定

一、医疗纠纷民事责任的确定

绝大多数的医疗纠纷案件属于侵权的民事纠纷。要确定纠纷的医方是否应承担民事责任，其前提是要确定医务人员有无诊疗护理过失及由此造成的病员身体健康的损害后果是否符合民法所规定的承担民事责任的构成要件。

（一）承担民事责任的构成要件

1. 必须有病员身体健康损害的事实　具体包括病员因医疗过失行为而发生死亡、残废、器官组织功能障碍、增加病痛、延长治疗时间等造成的财产损失，以及由此而导致的病员及其家属精神上的损失。上述损害事实必须是已经发生，确实存在，必要时经过客观检查后确认的。

2. 诊疗护理活动必须要有责任上的过失或技术上的失误　责任过失表现在违反国家规定的有关法律、法规和技术规范；技术失误表现为行为人实际具有的技术能力与其职称、学历不符，或设备条件所限而出现的过失。医疗纠纷中医务人员的过失一般表现为疏忽大意和过于自信的过失。

3. 病员的损害事实与医疗护理过失行为之间必须有直接因果关系　其因果关系的确定必须经过有关技术鉴定（如尸体检验）和科学论证确认，不能简单地根据事物出现的先后臆断。而且因果关系有多种类型，除了一因一果外，还有一因多果，多因一果，多因多果等类型。这可能是医院或医护人员的责任；也可能是患方的责任，或者双方的责任。

只要医疗人员同时具备以上3项，就能确定其要承担医疗纠纷的民事责任，而不论纠纷涉及的事实是否已构成医疗事故。

（二）承担民事责任的法律依据

对这一问题，目前理论界还有不同的观点和司法实践中的不同做法。法院受理医疗纠纷赔偿诉讼请求后，一般按照《民法通则》中关于民事赔偿责任的原则规定来确定民事责任和赔偿数额。赔偿范围和数额依病员身体损害的后果不同而有差别。原则是，造成了多少损失，就给予多少赔偿；不得在损失之外寻求赔偿。损失包括直接损失和间接损失。直接损失一般包括医疗费、就诊的交通费和住宿费、死亡的丧葬费等；间接损失指本来应该得到且能够得到的财产或利益，没有得到。它一般包括误工损失费、生活补助费、继续治疗费、直系亲属中无生活能力的人的抚养费等。精神损失费可以要求，但一般不宜过高。

按照《民法通则》的有关规定，目前我国在处理医疗纠纷的司法实践中，实行的是过错责任原则，即医务人员确实存在诊疗护理的过错，才能承担民事责任；没有过错就不承担责任。同时实行“谁主张，谁举证”的举证责任制度，这就要求病员一方提出证明医务人员有诊疗护理过失行为的证据。病员一方做到这一点无疑困难不少。他们可以请律师帮助。但事实上绝大多数律师缺乏必要的医学知识，对他们帮不了多少忙。医疗纠纷的法医学鉴定此时可以发挥特有的作用。法医学鉴定不仅可以实事求是地协助病员一方，而且也可以实事求是地协助医方举证，证明纠纷涉及的诊疗护理过程中是否有过失行为及其表现，有无不良后果及其程度。

二、医疗纠纷行政责任的确定

行政责任指受行政管辖的国家工作人员和企事业单位职工，违反行政法规所应承担的责任。医疗事故的行政责任，指医务人员在诊疗护理过程中不遵守规章制度和操作规程，违反行政法律规范，造成

病员严重不良后果所应承担的法律责任。

（一）承担行政责任的构成要件

与前述承担民事责任的构成要件基本相同，即必须同时具备行为的违法性，有损害后果及行为与结果之间的直接因果关系。不同的是医疗民事责任特别注意行为的损害后果，而行政责任却更注重违法行为而不特别强调损害后果。有时只要医务人员的行为违反了有关医疗法规、规章制度和操作规程，并且情节恶劣，即使没有实际造成损害后果，不承担民事责任，但也要承担行政责任，受到一定行政处罚。此外，医务人员承担行政责任的前提条件，一是他们必定是经过卫生行政部门考核、登记、聘用的医务工作人员或管理人员；二是其过失行为必须是在行政部门授权下依法执行职务，在诊疗护理工作中发生的。

（二）承担行政责任的形式及其具体责任

1. 行政处分及责任人的具体责任　根据医疗事故的等级、情节轻重、本人态度和一贯表现，给予责任人以行政处分。按1987年国务院《医疗事故处理办法》的规定，应采取以下措施：① 一级医疗事故：记大过、降级、降职、撤职、开除留用察看、开除；②二级医疗事故：记过、记大过、降级、降职、撤职；③三级医疗事故：警告、记过、记大过、降级、降职；④对造成技术事故的直接责任人一般免予行政处分，情节较重的也应当酌情给以行政处分。

2. 行政处罚及责任人的具体责任　行政处罚与行政处分虽都属于行政处理的范畴，但两者并不一样。行政处罚是由国家授权的特定行政机关做出的强制性措施，较之上述行政处分要严厉。行政处分是行政机关对其内部人员的纪律处分。行政处罚分为：①警告：是一种既具教育性质又具强制性质的轻微处罚形式；②罚款；③拘留：指依法限制责任人人身自由的处罚形式，通常称为行政拘留或治安拘留，是最重的一种行政处罚形式；④停止营业或吊销营业执照。行政处罚一般只适用于个体开业医生，而医疗单位的医务人员适用于前述行政处分。

值得注意的是行政处罚虽然通常仅限于医疗事故中的责任医务人员，但如患者或患者家属在纠纷中违反了治安处罚条例的有关规定，如扰乱医疗工作正常秩序、侵犯医疗单位财产或医务人员的人身权利、民主权利和工作权利时，情节严重的也可能受到直至拘留的处罚。

三、医疗纠纷中的刑事责任

（一）医疗事故犯罪的刑事责任

医疗事故犯罪是指医务人员在诊疗护理过程中，由于违反有关规章制度或诊疗常规，严重不负责任，造成就诊人死亡或者严重损害就诊人身体健康的行为。因此，医疗事故罪都是严重的责任医疗事故。按新刑法第335条的规定，对医疗事故犯罪的直接责任人可以“处三年以下有期徒刑或者拘役”。医疗事故犯罪的刑事处罚，可以充分发挥刑法的儆戒、惩罚、教育的作用，同时也可以保护积极向上、勇于探索、充分发挥主观能动性和技术潜能进行医疗活动的医务人员，以及患者的合法权益。

医疗事故犯罪从行为人的动机看，是一种过失犯罪。由于医务人员的严重不负责任，侵犯了患者的生命健康权而引起。追究刑事责任时，主要看其事故的危害程度。这是对医疗事故罪量刑的首要原则。事故的危害程度主要从以下二方面考虑：第一，医务人员不负责任的程度；第二，事故行为的情节；第三，患者死亡或损伤的实际后果。正如前述，许多医疗事故常常责任因素与技术因素混杂，个人责任与单位（科室、医院）责任兼有，直接责任与间接责任难分，以及患者出现严重不良医疗后果的复杂因素等情况，使得它不同于一般犯罪而较难认定。实际上以医疗事故罪定性和判刑的极少，与我国医务人员的实际情况也是相符合的。

由于医疗事故犯罪的实质是过失犯罪，所以事故的危害后果必然是行为人非故意的过失行为所引起。如果是故意行为所致，则已不是医疗事故犯罪，而是故意伤害罪或杀人罪了。

正是由于医疗事故犯罪的以上特点，因此除了认定上应特别慎重外，在量刑处理上一般应遵循较普通公民犯罪从轻的原则。医疗事故犯罪通常由检察机关受理，经侦查证据确实后直接向法院起诉的程序。对犯有医疗事故罪的人，除追究其刑事责任外，也可以同时追究民事责任。

（二）医务人员与医疗有关的其他犯罪

常见以下形式。

1. 故意杀人　与医疗事故犯罪的本质差别是，行为人明知自己的行为会产生危害他人生命的后果，却希望或放任这种后果发生，即其危害他人生命的“医疗”行为是故意的，而不论其是直接或者是间接故意。

直接故意杀人常见的形式，是在医疗过程中乘机投放毒药，这种案例已有不少报道，而且手段隐蔽。将有毒药物混入患者的口服药内，如将氯化钾、胰岛素，甚至氰化钾、有机磷农药等投入患者服用的药内或注入输液瓶中等。

例25　某糖尿病医院院长，为了与其情人结婚，先后用治病的胰岛素投毒杀死情人的丈夫和自己的妻子。

例26　某医院外科主任先将病菌投入夜餐的包子内送给其妻吃，致使发生急性腹痛、腹泻。又乘其妻住院治疗期间，于夜晚探视时把事先准备好的氯化钾溶液加入输液瓶中，致其妻迅速死亡。

间接故意杀人多表现为行为人的不作为，即对本该实行的救死扶伤行为消极地不予实施，从而导致患者死亡。常以借故未交医疗费的名义拒不收入院或拖延手术治疗，导致患者死亡或残废。

2. 故意伤害　其本质与故意杀人相同，只是其故意行为的目的不是致人死亡而是故意造成患者的伤害。如手术中故意造成患者某个脏器的伤害，使其功能丧失或严重损害。

例27　某外科医生在一次急腹症手术时发现患者是其以往的恋人，因曾被其抛弃而乘开腹手术之机，结扎了该青年妇女的输卵管，使其丧失生育能力。后被发现而判刑。有时即使客观后果超过了他的本来只是伤害的目的，如导致急性大失血性休克，造成了患者死亡。但从法学观点上看，仍然是故意伤害罪。损害后果可按人体损伤标准鉴定。

3. 强奸罪　与通常的强奸罪不同的是，犯强奸罪的医务人员一般采用药物使被害人失去反抗或理智，或者对缺乏理智（如精神病患者）的被害人施行非法性行为，再加上医生的职业关系，因而在被害人身上不一定有通常被强奸人应有的损伤和抵抗征象。鉴定时又不能单听患者一方的陈述，尤其当患者是精神病患者时。法医鉴定主要靠对被害人的身体检查和阴道内可疑精液或分泌物的化验。

例28　某精神病院男护士，先后用药物、乘患者神志不清或给以小恩小惠的手段奸辱10多名精神病患者或家属。最后被判处死刑。

4. 非法提供毒品　许多毒品在一定条件下具有医疗作用，可以按规定在医疗单位使用，但如果违反国家的《麻醉药品管理办法》和《精神药品管理办法》的规定，故意将受管制的药品（毒品）提供给他人贩卖或吸食的，就构成了此项犯罪。

5. 生产、销售假药、劣药罪　依我国《药品管理法》规定，假药指：①药品所含成分的名称与国家药品标准或地方药品标准的规定不符的；②以非药品冒充药品或者以他种药品冒充此种药品的。

此外下列情形也按假药处理：①国务院卫生行政部门规定禁止使用的药品；②未取得批准号生产的药品；③变质不能药用的以及被污染不能药用的药品。

劣药指：①药品成分不符合国家药品标准或各省药品标准的；②药品超过有效期的；③其他不符合药品标准规定的。

6. 出具伪证　有的医务人员为了私利或人情，不顾原则滥开医学证明；或提供假的病历材料，妨碍司法公正。情节严重的也构成犯罪。

医务人员的上述犯罪不同于其他犯罪的是不以实际造成危害人体健康的结果为构成条件。只要行为人的行为是以危害人体健康为目的，而不论这种危害是否已经发生，都构成犯罪。当然，实际危害的

后果有无与轻重不同，其所受到的处罚自然是不同的。

7. 其他犯罪　如有的医务人员，不负责任地开死亡证。

例29　某医院中年医生，受人之托，在未检查的情况下出具死亡证。致使一名被其子投放农药严重中毒但尚未死亡的老妇送入殡仪馆，后被发现而送回。这名医生为此被开除且被判处有期徒刑。

在我国安乐死还未立法实行，就接受患者或患者家属请求非法致患者非正常死亡；为了一点私利，在未进入脑死亡的患者身上提取患者器官、组织做移植等，也是犯罪行为。

（三）医疗纠纷中患方的犯罪

1. 扰乱社会秩序罪　指患方故意扰乱社会秩序，如停尸医院、抬尸上街或聚众闹事，致使工作、生产、营业、教学和科研等无法进行，国家和社会遭受严重损失的行为。造成这项犯罪的原因也较复杂，有主观的原因，有时也有客观的原因，故实际上除非情节和后果特别严重，一般多不大追究。

2. 故意伤害罪　较少见。只有患方故意的伤害行为确实造成了有关人员（医务人员或医疗机构管理人员）轻伤程度以上的实际身体伤害时才构成此罪。

例30　一患者家属因怀疑医疗事故处理不公，用浓硫酸将医院医政科干部面部烧伤而致重伤毁容，被判处有期徒刑。

第五节　非法行医

一、概述

（一）非法行医的概念

非法行医（illegal practise medicine），指为了谋取非法利益，在没有取得当地医疗卫生行政主管部门颁发的医生执业资格和营业许可证（执照）的情况下，擅自从事医疗活动。其核心是没有取得卫生行政主管部门经过考核和审查后发给的医生执业资格（执照），而不论行为人本人的实际医疗水平如何。即使行为人有很高的医疗技术水平，但在没有取得到合法执业资格和营业许可证的条件下，从事医疗活动，仍视为非法行医。

（二）非法行医的常见类型

常见的非法行医类型有以下几种。

1. 不懂医术的巫婆、神汉行医　一般见于农村地区。一方面不少农民由于文化水平较低，不信或不懂科学，崇尚迷信；另一方面由于经济上的原因，常听信巫婆或神汉的胡言乱语，胡乱服“药”、扎针，其不良医疗后果自然常见。

2. 所谓气功师行医　有的人仅靠简单的气功就夸大治病的效果，甚至弄虚作假，坑骗患者。这种形式不仅见于农村，也见于城市。受骗者不仅有文化水平不高的工人、农民或家庭妇女，有时也见于一些文化水平相当高但迷信气功的人。

3. 巫医、游医行医　他们多是懂得一点医学知识或者草药常识的人，但多是一知半解，或完全不懂。以所谓的“祖传秘方”为幌子，非法自制药物或自配药方，私自给人看病、开处方或者售药。常因延误诊治、药物过量或中毒而造成严重后果。也以农村多见。

例31　某农民以祖传秘方为名私自配制药酒在当地给人治疗风湿疼痛。一邻村农民服了在其处购买的药酒后，口唇四肢麻木，心慌，气喘，不久，四肢冰凉，昏迷死亡。尸检及毒物分析显示系乌头中毒，药酒中乌头含量很高。

4. 无照行医　这是最常见、最典型的一种非法行医方式。这些非法行医者多具有一定医学专业知

识，基本能胜任医疗工作，或者为退休、离休的医务人员。由于没有取得到合法的行医执照而从事医疗活动，仍叫非法行医。

在非法行医过程中出现不良医疗后果是很常见和很自然的。一旦出现不良医疗后果，由于他们没有合法执照，且常设备简陋，也很自然使患者或者患者家属认为有医疗过失而发生医疗纠纷。虽然非法行医造成的不良医疗后果按有关规定不属于医疗事故及医疗事故鉴定和处理的范畴，但其仍是一种医疗纠纷，或者说是一种特殊类型的医疗纠纷。

二、非法行医罪的概念及其所负的责任

非法行医与非法行医罪之间的区别是其情节的轻重。情节轻微的非法行医只属于一般的行政违法行为，可给予相应的行政处罚，如警告、罚款、拘留、取缔等。

非法行医罪（guilt of illegal practise medicine），指因非法行医严重地危害了国家的医疗管理秩序和公众生命健康安全，即非法行医情节严重者。主要有以下几种情况。

（1）没有基本的医疗知识而冒充医生为他人诊疗而延误治疗时机的；

（2）医疗条件严重不符合国家规定标准的；

（3）非法行医不听卫生行政部门劝阻一犯再犯的；

（4）伪造、涂改、出卖、转让、出借“医疗机构执业许可证”的；

（5）违反有关法律法规和医疗技术规范，或医疗过程中对患者有其他违法行为的；

（6）进行严重违反计划生育政策活动的，如擅自为他人做节育复通手术、假节育手术、终止妊娠术、摘除宫内节育器等；

（7）使用非卫生技术人员从事医疗卫生技术工作的；

（8）自定收费标准、乱开药方、牟取非法利益数额较大的；

（9）卖假药、劣药，或其他剧毒药品的；

（10）在医疗工作中作风恶劣，不负责任，发生严重不良医疗后果的，等。

非法行医罪者需承担相应的刑事责任，以及相随的行政责任和民事责任。新刑法第三百三十六条对非法行医行为的定罪和量刑都作了明确具体规定，情节严重的单处罚金、管制、拘役，甚至10年以上有期徒刑，并处罚金。行政处罚可以没收其违法所得，以及没收非法行医有关的财产等；民事责任包括对患者的经济赔偿。

三、因非法行医导致的诉讼

因为非法行医不属于医疗事故范畴，因此一旦非法行医导致医疗纠纷，卫生行政部门一般不予受理，及对其进行技术鉴定和处理。如果情节恶劣、后果严重，如造成患者死亡、残废或轻伤程度以上的身体伤害，患方可以以非法行医罪直接要求公安机关追究其刑事责任，或者直接向法院起诉，要求按民事法上有关人身伤害进行民事赔偿。当然，也不排除患方与非法行医者私下调解的可行性。但往往由于双方立场相差甚远而调解失败，最终走上诉讼的道路。

参 考 文 献

1 梁华仁. 医疗事故与法律责任. 北京：人民卫生出版社，1992

2 刘振生. 医疗事故纠纷的防范与处理. 第2版. 北京：人民卫生出版社，1998

3 马建民. 医疗纠纷与法. 北京：北京科学技术出版社，1991

4 齐世民. 医疗纠纷与法律责任. 北京:人民军医出版社,1999
5 张益鹃,王佐飞,黄光照. 医疗纠纷的法医病理学鉴定——139 例医疗纠纷尸检分析. 中国法医学杂志,1995,10(2):105
6 张益鹃. 涉及死亡医疗纠纷的发生——27 年医疗纠纷法医尸检回顾性研究之一. 法医学杂志,2000,16(2):72
7 张益鹃. 涉及死亡非医疗过失纠纷的类型、死因和发生原因——27 年医疗纠纷法医尸检回顾性研究之二. 法医学杂志,2000,16(3):135
8 张益鹃. 99 例医疗过失纠纷的类型、死因和发生原因— -27 年医疗纠纷法医尸检回顾性研究之三. 法医学杂志,2000,16(4):198
9 张益鹃. 医疗纠纷处理中的法医病理尸检. 法律与医学杂志,1999,6(3):100
10 汪耿华. 医疗差错法医学鉴定. 法律与医学杂志,1999,6(3):124
11 李路明. 浅谈医疗纠纷案件的民事处理. 法律与医学杂志,2000,7(1):34
12 吕永朝,卢晓. 医疗纠纷,我们该如何面对. 法律与医学杂志,2000,7(2):51
13 刘鑫,曾跃萍. 医疗损害限额赔偿原则的理论探讨. 法律与医学杂志,1999,6(1):23
14 邓振华,廖志刚,易旭夫,等. 医学文书作为证据的相关问题研究. 法律与医学杂志,1999,6(2):70
15 肖卫华. 医事赔偿若干法律问题研究. 法律与医学杂志,1999,6(2):62
16 宋长青. 法医参与医疗纠纷鉴定应注意的几个问题. 法律与医学杂志,1999,6(4):162
17 朱远亮,杜舟. 非法行医案件的特点与检验方法探讨(附 8 例分析). 法律与医学杂志,1999,6(4):165
18 张益鹃,张黎,何军. 氨茶碱的毒性作用——一个尚未引起重视的医疗过失死因. 法律与医学杂志,2000,7(2):64
19 赵新河. 简论医疗事故的司法鉴定制度. 法律与医学杂志,2000,7(3):122
20 屈建业. 医疗事故鉴定中应当改进的几个方面. 法律与医学杂志,2000,7(3):124
21 孙东东,吴正鑫. 关于我国建立医疗纠纷仲裁制度的参考. 法律与医学杂志,2000,7(4):170
22 裴小梅,朱广友. 医疗纠纷的法医学鉴定:关于医疗行为的承诺与说明. 法律与医学杂志,2000,7(4):173
23 刘鑫. 论医疗事故罪的认定与处罚. 法律与医学杂志,2000,7(增刊):84
24 唐晋. 论医疗责任事故罪. 法律与医学杂志,2000,7(增刊):93
25 陈新山,胡俊,刘艳,等. 医疗纠纷中 135 例猝死分析. 法律与医学杂志,1998,5(3):100
26 游昌盛,池月松. 福建省 20 年医疗事故综合分析. 中国医院管理,1991,11(7):49
27 林梦日,王生. 诊疗失误与医疗事故的关系. 见:林梦日主编. 诊疗失误学. 北京:人民军医出版社,1994. 1~2
28 刘世昌,肖启亨. 301 例医疗事故法医学分析. 中华医院管理杂志,1987,3(2):101
29 王宁敏,刘长春. 法医工作介入医疗纠纷的意义. 法律与医学杂志,1994,1(4):170
30 程亦斌,王少华. 医疗纠纷的法医临床学鉴定. 法律与医学杂志,1998,14(4):209
31 宋泽范. 医疗事故鉴定之我见. 中国法医学杂志,1995,10(2):120
32 陈阳,唐文章,程利宝. 43 例致死性医疗纠纷的病理学分析. 法医学杂志,1999,15(2):100
33 陈新山,饶广勋,黄光照,等. 73 例手术科室医疗纠纷的分析. 法医学杂志,1999,15(2):195
34 陈曙光. 正视医疗纠纷. 中国医疗纠纷与对策,2000,1(3):191
35 祝进康,周士鳌,王林海,等. 医疗纠纷的思考与管理. 中国医疗纠纷与对策,2000,1(3):201
36 Knight B. Medical malpractice. In: Simpson's Forensic Medicine. 7th ed. London. Sydney. Auck-

land:Oxford University Press,1997. 163 ~ 170

37 Murphy GK. Therapeutic misadvanture, an 11 - year study from a metropolian coroner's office. Am J Forensic Med and Pathol,1986,7(2):115

38 Zhang YG, Wang ZF, Huang GZ. Forensic pathological expertise of medical tangle analysis of 139 autopsy cases. J Tongji Med Uni, 1995,15(4):253

第十五章 DNA分析技术及其应用

伍新尧 庾 蕾 孙宏钰

第一节 DNA的特性

法医物证学所进行的许多鉴定项目，如亲子鉴定、个人认定等都是通过分析个体终生不变的遗传标记来实现的。这些标记可分为遗传表型标记和遗传物质本身两大类。传统的观点认为，一个遗传表型（即一个性状）是由一个基因控制的，由此推算人类基因的总量约10万个左右。但是，随着人类基因组作图计划的基本完成，人们发现真正的基因数量却远远少于这个数目，只有3万多个，以往的“一个基因，一个性状”的观点开始受到质疑。现在认为，基因与遗传表型之间的关系较为复杂，许多遗传表型是受多因素共同作用的结果；一段DNA序列在不同的条件下可以有不同的基因产物，即“基因序列”与“基因产物”之间并不总是“一对一”的关系，而是有很多例外。例如，某些A1型血的个体在一些特殊情况下会出现获得性B物质；某些疾病，特别是一些恶性肿瘤会使患者的红细胞或白细胞表面抗原丢失或表达水平降低，甚至出现一些正常人没有的抗原种类。即使在正常人，也会有类似的情况，比如在HLA Ⅰ类抗原的基因位点可由于突变而产生“沉默基因”（null gene）。另外，在一些罕见血型的情况下，如Cis－AB、孟买型（Oh）等，在亲子鉴定中也常常会发现一些与正常的遗传规律相矛盾的现象；即使在常见的ABO血型遗传过程中，也偶然会出现遗传变异。例如，日本曾报道1例B型血父亲和O型血母亲，生出一个A型血的孩子。中山医科大学法医鉴定中心也遇到了1例类似的案件，B型血的母亲与O型血的父亲偶然间发现自己的儿子属于A型血。经过认真的DNA检测，包括常染色体30个STR位点、Y染色体6个STR位点和线粒体DNA高变区的测序，未发现他们之间有任何不符合孟德尔遗传规律（Mendelian Law）的证据，从而肯定了他们的亲子关系。还有很多类似的案例，最后都通过DNA分析证实了他们之间的亲生关系。这些情况说明，仅仅依赖遗传表型的检测结果来判断被检查者之间的遗传关系的方法有时候会得出错误的结论。

对于个人认定，利用遗传表型作为分析判断的工具的局限性就更加明显。所有遗传表型标记都是蛋白质类物质，其化学结构很容易在外界因素的作用下遭到破坏或失去活性，难以长期保存。对于某些微量检材中的表型物质，目前的实验技术水平也难于确定它的存在。此外，在人群中，个体间具有相似

表型的机会也很高，很多情况下靠表型的检测无法将2个个体区分开来。许多案件因此悬而不决。

鉴于这些原因，目前有条件的实验室都已经不再使用遗传表型标记来进行亲子鉴定和个人认定，而改为分析遗传物质本身，即DNA分析。这是因为，DNA作为遗传标记有以下一些特性。

一、DNA是具有个体特异性的遗传物质

DNA是保证每个个体具有自身特异的物质构成，独特的个性、思维、行为方式的最重要的物质基础。也就是说，个体之间表现型差异的根本原因是由于他们之间DNA组成的差异。

人类染色体DNA是由4种碱基（A、G、C、T）按不同的排列组合形成的，约有3×10^9个碱基对（base pair，bp）的核苷酸长链，这就使得DNA序列的碱基组成完全是个体特异的。除单卵双生的2个个体以外，世界上没有任何2个人的DNA序列组成是完全一致的。因此，DNA是个体身份的最好标记。

二、人类DNA存在于细胞的染色体和线粒体2个部分

一个受精卵在子宫中发育成为一个个体，其中染色体的DNA和线粒体DNA各自按照严格的碱基配对原则不断地复制，分裂增生出许多细胞。最后该个体的全套DNA都是来自这个受精卵。不同的是，染色体DNA是按照孟德尔遗传规律遗传的，46条染色体中有一半（23条）来自父亲，一半来自母亲；而线粒体DNA只存在于细胞质中。在受精卵形成过程中，精子的线粒体并不进入到受精卵内。因此，受精卵中的线粒体只来自母亲，是按母系遗传的。

三、遗传物质稳定传递的相对性和变异的绝对性是矛盾的统一

虽然DNA是个体身份的最好标记，但是，作为个体特征的DNA并不是一成不变的，主要有以下几方面的原因。

1. DNA复制的差错　一个生命从一个受精卵开始，经过不断的增殖、分化，最终发育成为一个功能完善的个体。在这期间，DNA要经过无数次的复制。尽管复制是严格按照碱基配对的原则，按半保留的模式进行，但是，由于复制的数量十分巨大，在其中某个阶段或某个步骤仍然有可能出现差错，产生碱基错配。这些错配的碱基遗传下去，并积累到一定程度，就可能出现表现型的变异。而在某些重复序列基因座中，可能由于DNA聚合酶的原因，复制出来的DNA链比模板链多了或少了一个核心序列，少数情况下也可以多出几个核心序列，因而出现亲代和子代在某些重复序列基因座上，有重复次数的差异。此时虽然没有表型的变异，但在DNA分析时会表现出遗传矛盾现象。另外，当机体发生某些疾病，特别是某些恶性肿瘤时，其瘤组织与瘤旁正常组织的DNA组成也会存在差异，产生如杂合性缺失（loss of heterozygosity，LOH），微卫星DNA不稳定（microsatellite instability，MSI）等现象。

2. 环境因素的干扰　个体发育过程，会受到环境中各种有害因素的影响，DNA会受到损伤。特别是在胚胎发育的早期，细胞分裂旺盛，DNA复制不间断地快速进行，复制的忠实性更易受外界因素的干扰、破坏，严重的DNA复制错误可导致流产、畸形、先天性疾病等。对一些不是十分严重的DNA损伤或复制错误，机体内有一套修复机制去矫正，使其恢复本来的面目。但是，在体内损伤修复机制没有完全纠正这些损伤时，它会被保留下来，并遗传给后代。这些因素中，以化学物质（如芥子气、亚胺类和亚硝胺等）、紫外线、电离辐射和一些生物因素（如逆转录病毒）等对生物体DNA的损伤和引起变异的效果最显著。

3. 生殖细胞重组　人类遗传活动中，生殖细胞要逐渐成熟。在此过程中，精母细胞和卵母细胞首先要进行许多次的DNA复制，其中精母细胞要进行DNA复制的次数多达350次，卵母细胞也要进行几十次的DNA复制。然后还要进行减数分裂，染色单体要交换重组。若在染色体的异常部位进行交换，成

熟的生殖细胞就会重组出新的基因传给后代。

4. 转座子的影响　在生物界中普遍存在的转座子(transposon),也可导致遗传物质的变异,并传递给下一代。

5. 染色体不分离　在另外一些情况下,生殖细胞减数分裂时出现染色体不分离的现象,形成所谓的非整倍体,如 Klinefelter 综合征(XXY);XYY,Turner 综合征(Xo);21 三体征(Down 综合征);18 三体征(Edward 综合征);13 三体征(Patau 综合征)等。若是在受精卵发育的阶段发生染色体不分开的现象,如在卵裂期或以后,则有可能产生由不同基因型细胞组成的个体,形成所谓嵌合体(mosaic),如 Xo/XYY,Xo/XX,或 XY/Xo/XYY 等。

所以,在进行 DNA 分析时要考虑到遗传与变异的关系。

遗传物质的稳定传递是保证物种能在自然界中不断繁衍,维系该物种不会灭绝的最重要的保证。但是,自然界是不断变化发展的,只有能够适应这些变化的生物体才能生存下来,因此生物体本身也要不断地变化。那些不能适应自然界变化的生物最终会被淘汰。所以生物的进化从来就没有停止过。除了要适应不断变化的自然界外,生物体的生长发育过程会受到许多环境因素的影响和作用,这些因素都会使生物体不断地发生变异。变异的结果有可能使生物体某些生理功能下降或得到改善,某些功能上具有优势的生物体会更适应环境,发展得更加完善,而功能劣势者则被淘汰。达尔文进化论中新物种的产生就是这个原因。可见,生物体遗传的稳定性是相对的,变异是绝对的。人类也是一样。例如,在非洲的某些地区,恶性疟肆虐,许多人因此而丧命。但是在当地人群当中,镰状红细胞贫血患者对恶性疟原虫的侵袭却有较高的抵抗力。其原因是这类患者携带有镰状红细胞疾病基因,使得其红细胞中具有 HbA 和 HbS 2 种血红蛋白,血红蛋白的这种组合影响了疟原虫获取营养;同时这样的红细胞膜不利于疟原虫的进入;此外,携带这种疾病基因(杂合子)的女性的生育率高于正常女性(原因尚不明)。这样,经过许多代,这种疾病基因的携带者在这一地区的比例就特别高。可见,不同的人群会有自身独特的遗传和变异特点。在分析 DNA 特点和利用 DNA 资料数据时,都要考虑人群、人种、民族之间的差异。

第二节　DNA 多态性标记的特点

由于人类 DNA 多态性(DNA polymorphism)十分复杂,要认识所有这些多态性现象,需要先将它们分类。

一、DNA 多态性的分类

(一)按多态性 DNA 片段的来源分类

可分为染色体 DNA 多态性,线粒体 DNA(mtDNA)多态性。通常所讲的 DNA 多态性多指染色体 DNA 多态性,但 mtDNA 多态性的研究越来越受到重视,本章第五节专门介绍了 mtDNA 多态性的研究进展。

(二)按多态性 DNA 片段所在区域分类

可分为基因、基因间隔区、编码区及非编码区的多态性。

(三)按多态性 DNA 片段是否以位点的形式分布分类

可分为全基因组多态性和以位点为单位的多态性。以位点为单位的多态性容易理解。位点(locus)是指在成对的同源染色体上相同的某一个位置。在该位置 2 条染色体各含一段 DNA 序列,通常称这一段序列为一对等位基因。对于某一个体,若这对等位基因的序列组成和长度都相同,这个个体就称为纯合子,不同则称为杂合子。同一个体的某一位点上不会出现有 3 条片段的 DNA 序列(三体征个体除外)。但是,全基因组多态性则完全不同,无法以成对染色体上的某个位置的 DNA 片段来进行分析,甚至每个个体的几十条 DNA 片段究竟各来自哪一号染色体也都难于回答。其典型的例子就是 Jeffreys

等(1985 年)用 RFLP 技术发现的 DNA 指纹图。

(四)按重复序列分类

可分为散在重复序列和串联重复序列。其中的串联重复序列通常称为数目可变的串联重复序列(VNTR,variable number of tandem repeats),它又包括小卫星 DNA(minisatellite DNA)和短串联重复序列(STR,short tandem repeats,也可叫做微卫星 DNA,microsatellite DNA)。实际上,这 2 种重复序列的区别主要在于它们核心序列的长度及重复次数不一样,前者为 9~80 个 bp 的核心序列,重复数次到数千次不等;后者 2~6 bp 的核心序列,重复 10~60 次(表 15-1A、表 15-1B)。现在医学界,尤其是法医学界,使用最多的是 STR。它占了所有重复序列总长度的 30% 左右(相当于基因组 DNA 序列的 10% 左右),数量非常巨大,完全能够满足个人认定的需要。

表 15-1A STR 位点 D18S51 各等位基因序列组成

D18S51 位点的序列组成			等位基因编号
$[ACAA]_{9-13}$	AAAC	ACAGAG	9~13
$[\cdots\cdots]^{*}_{13}$	------	AG ----------	13.2
$[\cdots\cdots]_{14}$	------	-------	14
$[\cdots\cdots]_{14}$	------	AG ----------	4.2
$[\cdots\cdots]_{15}$	------	----------	15
$[\cdots\cdots]_{15}$	------	AG ----------	15.2
$[\cdots\cdots]_{16-27}$	------	----------	16~27

* 表示序列与上一行所列的相同。以下的表中所示意思相同

表 15-1B STR 位点 D20S85 各等位基因序列组成

D20S85 位点的序列组成	等位基因编号
AAAG AAAC AG AAAG AAAG AAAG$[AAAG]_{8-13}$	8~13
---------- $AAAG]_{7}$	7A*
---------- A ---------- ACAA AGAG$[AAAG]_{7}$	7B*
---------- A ---------- AGAA AGAG$[AAAG]_{6}$	6

*7A 和 7B 只有通过序列分析才能区分

(五)按单核苷酸多态性(single nucleic polymorphisms,SNPs)分类

这是近年来研究的热门课题。这种多态性位点分布非常广泛,据估计大概每隔 3 000 bp 就会有一个 SNP 多态性位点。本章第六节对此有比较详细的介绍。

二、DNA 多态性标记的特点

1. DNA 序列的多态性信息量是表现型多态性无法比拟的 这首先是因为表现型是由基因控制的。个体之间之所以有表现型的多态性,是因为在他们之间控制这些表现型的基因(准确地说,是控制这些性状的基因座的等位基因)的序列有差异。其次,这些基因只占整个基因组序列的一小部分。在人类的组织细胞中,真正有活性的基因序列还不到整个基因组序列的 15%,有些学者认为甚至不到 10%。因此,如果只检测表现型的多态性,将会失去大部分个体之间的遗传差异的信息。

2. 人类基因组 DNA 序列的多态性具有高度的复杂性和广泛性 从上述 DNA 的分类中可以知道,在人类基因组 DNA 3×10^{9}bp 序列中,人群的个体之间存在着广泛的序列差异。这些差异表现的形式很多:①限制性核酸内切酶识别序列的差异(用 RFLP 技术检测);②基因序列的差异(用核酸杂交技术

检测);③重复序列的差异;这类差异的特点是数量很多,其总长度占了基因组 DNA 的 30% 左右。同时,它还有散在重复序列和串联重复序列的区分(主要用 PCR 技术检测扩增片段长度的差异),重复序列之间又有核心序列种类的差异,同一个核心序列的重复序列又有重复次数的差异。因此总的信息量很大;④片段序列的差异;⑤单核苷酸多态性等。因此,世界上除了单卵双生的 2 个人以外,没有任何 2 个个体的 DNA 多态性类型是完全一样的。这就为法医学的个人识别和亲子鉴定提供了极好的工具。

这些 DNA 多态性除了在同一人类群体的个体之间存在差异外,在不同的人群之间也会存在差异,而且这种差异会有一定的规律。我们可以利用这些规律来辨认某个个体是来自哪一个民族或哪一个群体,从而为追查作案嫌疑人提供非常重要的线索。

同时,利用群体之间的 DNA 多态性差异,可以追踪人类某个群体与另一个群体之间的亲缘关系,这就是人类学研究的范畴。

3. DNA 是具有双螺旋结构的核酸　这种结构赋予 DNA 一种非常奇特的性质,使其在干燥的环境下,不会被核酸酶类分解。因此 DNA 本身能保持长时间不变。在俄国西伯利亚地区的长期冻土地带,曾发现已经灭绝了的猛犸的残骸。其 DNA 仍然可以抽提出来,经过分析,证明猛犸与现在的象有一定的亲缘关系。据查,猛犸的灭绝距今至少有 4 000 年的历史,足见这具遗骸的 DNA 保存时间之长。另外,俄国曾出土了一具怀疑为俄国沙皇尼古拉二世的遗骸。通过对其 mtDNA 进行分析,证实了他和现在还活着的皇族后代的亲缘关系。类似的例子很多,都证明 DNA 能够长期保存,这对法医学进行个人认定和亲缘关系的鉴定十分有价值。在许多刑事和民事案件中,只要法医工作者或当事人能够及时妥善地保存好作案现场的物证,特别是注意将这些物证在彻底干燥的情况下保存起来。过了几年、十几年甚至更长的时间,这些证据经过分析以后,同样可以发挥它的证据作用,使案犯难逃法网。

4. 遗传与变异　遗传稳定是相对的,变异是绝对的。这些变异会产生 2 种效果,一种是对机体有害,这时可以使机体患病,甚至死亡;另一种变异因为发生在基因组上的非编码区,因而对基因的表达产物不造成影响,或者是发生在编码区的变异,但它不影响编码蛋白质的性质改变,同样对机体不会造成有害的后果。无论是引起疾病的或不引起疾病的变异,只要该个体还具有生育能力,就可能将这些变异传给后代。结果会进一步增加 DNA 多态性水平。能够引起机体产生疾病的 DNA 多态性,就可以用来进行疾病的诊断或相关性分析。这是 DNA 多态性分析的另一个重要的应用领域,其价值也是显而易见的。

5. 线粒体 DNA 的异质性　在人类不同的组织或细胞里,线粒体 DNA(mtDNA)的序列,特别是线粒体 D-环区的序列组成会有不同的类型,称之为线粒体 DNA 的遗传异质性(heteroplasmy)。目前已知,2 个或更多类型的 mtDNA 混合物可能存在于一个个体中,即同一个体的不同组织,或同一组织的不同部位,甚至同一细胞的不同 mtDNA 拷贝都可能存在某些差异。由于这种异质性的存在,给个人认定时的解释工作带来许多困难。

上述遗传与变异现象共同存在的事实告诉我们,在利用 DNA 分析结果作为个人特征标记来进行个人认定或亲子鉴定时,要充分认识到上述各种变异的可能性,并用以指导具体的法医学鉴定,免得误入歧途。

第三节　STR 多态性

一、STR 分型

STR 是短串联重复序列的简称,这是一类核心序列为 2~6 个 bp 长的串联重复序列,其片段长度在几十个 bp 至几百个 bp 之间。由于其片段长度短,即使是法医学上常见的细胞已经被破坏,DNA 降解严重的腐败检材或是放置时间很长的检材,同样可以用 PCR 技术扩增出特异性的 DNA 片段来进行基

因分型，达到个人认定的目的。另一方面，由于其片段短，扩增效率特别高，对 PCR 的条件要求也相对较低。因此，条件很差的检材往往都能成功地进行基因分型。

由于 STR 分型具有上述这些十分突出的优越性，因此，几乎全世界的司法鉴定 DNA 实验室都在采用这一技术，并已经基本上取代了其他 DNA 分析方法，一些人称 STR 分型是个人认定的黄金标准（gold standard）。普通的 PCR 技术对实验操作人员的要求也不高，单个位点的 STR 分型技术在许多设备比较简单的实验室都能进行。由于司法鉴定 DNA 实验室所肩负的任务非常特殊，不容许出现错误的结论。但是在一些检材条件不好，检材的数量很微小的情况下，要做到不出错误结论对于普通的实验室很难达到，这是因为 PCR 实验看似十分简单，其实则不然，由于是在十分微量的情况下进行实验，许多实验过程中看不见、想不到的因素都可能影响实验的结果。因此进行司法鉴定 DNA 实验的技术人员必须经过严格的训练，能预测到实验中可能出现的各种问题并有相应的对策。

（一）银染法

对于许多受理案件不太多的实验室，STR 分型的银染法仍然是一个十分实用而又有效的方法。单位点 STR 的等位基因容易扩增成功，方法简单，而且灵敏度较高，成本较低，在普通实验室都可以开展这个项目。另外，银染法容易发现并纠正实验中出现的问题，因而结果比较可靠。其缺点是每次实验只能检测一个位点，分辨率低。

为了提高分辨率，一些实验室或厂商研制了多个 STR 位点的复合扩增试剂盒。在国内，中山医科大学法医物证学教研室已研制了包括 D7S820、D16S539、TPOX、CSF1PO、D19S253、D8S1179、vWA、DXS7132、DXS6799、DXS6804 等 20 余个位点在内的复合扩增试剂盒，一些单位的试用效果很好，其个体识别力达到 1×10^{-19}。国外一些公司，如 Promega 公司有同类的试剂盒在国内销售。这些试剂盒的个人识别力比单位点的大大提高，因而可以节省检材，节约时间，提高效率。

不过，银染法的结果是用肉眼来观察的，所以其灵敏度受到一定的限制。

（二）多色荧光标记法

由于银染法所得结果只是单种颜色，故其复合扩增试剂盒的位点数不能太多，一般 1 次复合扩增的位点不能超过 4 个，否则会因为不同 STR 位点的扩增产物互相重叠，难于区分检材的基因型。但是，如果采用多色荧光标记法，就可以解决这个问题。用一种颜色的荧光素标记一组 3 或 4 个 STR 位点，另一种颜色的荧光素标记另一组 3 或 4 个 STR 位点，多种荧光素则可以标记多组不同的 STR 位点。加在一起，就可以达到 1 次检测 12 至 16 个 STR 位点，其个人识别力则会大大提高。Promega 公司的 4 色荧光素标记的 STR 分型试剂盒，其个人识别力可以达到 1×10^{-17}，完全可以满足个人认定的要求。

二、STR 分型结果的判断

尽管 STR 分型具有上述快速、方便、容易掌握、可应用的生物检材种类多等优点，但是 STR 分型的实验结果（即电泳的图谱或在 DNA 自动分析仪扫描出来的峰波）中会存在许多难以判读的情况。为了避免错误，必须注意下列事项。

（一）使用等位基因阶梯

在作 STR 分型时，必须用该位点的等位基因阶梯（allele－specific ladder，简称 ladder）作为确定等位基因的标准，这是 STR 分型的基本要求。美国的一些厂商已经开发出用于银染法和 DNA 自动分析仪上使用的商品化的试剂盒。我国有不少的实验室也在使用这些试剂。但是，实践证明按照白种人的 DNA 资料设计制备的试剂盒有些并不适合中国人群。因此，必须设法制备完全适合中国人的试剂盒。这一点不仅有社会意义和经济意义，还有科学意义。适用于中国人的等位基因阶梯必须在中国人群中寻找，而且这些等位基因阶梯一定要经过序列测定证实其重复次数以后才能采用。因为根据扩增的片段长度而确定的等位基因会存在着长度相同但序列不同的情况，如位点 vWA 的一些等位基因中就有这

种现象，见表 15－2。

等位基因阶梯的命名要按照核心序列的重复次数进行，若中间插入有不规则的序列时，则用“·1”“·2”“·3”等方式表示。如 FGA 位点的某些等位基因表示为“13”、“13·2”、“19”、“19·2”等。这是因为，各个实验室在进行 STR 位点分型时，分别使用各自的引物进行检测，得出的扩增产物的长度可能有差异。但是只要是同一个位点的同一个等位基因，其核心序列的构成和重复次数就是相同的。按照上述的原则，只要各个实验室都按照这个统一的标准来命名，最后得出的数据在实验室就可以进行比较。因此，建议各个实验室将自己制备的每一个等位基因阶梯的序列都经过测序后给予公布，这样各个实验室的数据才更加可信，同时这些 DNA 数据的资源也可以给全国乃至全世界共享。本书后附有中山医科大学法医物证学教研室在亲子鉴定中使用的 STR 位点的等位基因阶梯序列表及等位基因阶梯的制备及使用方法。

（二）注意序列差异

除了长度多态性之外，有相当多的 STR 位点的序列组成复杂，某些序列构成不同的等位基因可以出现长度相同的现象。所以在确定等位基因命名时，就要特别注意这样的一些现象，以免造成错误的结论。这些位点除了下面表 15－2、表 15－3 所举的 2 个例子以外，还有 FCA，D21S11，D13S317，D3S1358 等，需要特别留意。

表 15－2　STR 位点 vWA 各等位基因序列构成

等位基因命名	核心序列构成
10	TCTA TCTG TCTA $[TCTG]_4[TCTA]_8$
11	TCTA $[TCTG]_3[TCTA]_7$
12	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_7$
13	$[TCTA]_2[TCTG]_4[TCTA]_3$TCCA$[TCTA]_3$
14	TCTA TCTG TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_3$TCCA$[TCTA]_3$
15*	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_8$TCCA TCTA
15	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{10}$
16	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{11}$
17	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{10}$TCCA TCTA
17*	TCTA$[TCTG]_3[TCTA]_{11}$TCCA TCTA
18	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{11}$TCCA TCTA
18*	TCTA$[TCTG]_3[TCTA]_{12}$TCCA TCTA
19	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{12}$TCCA TCTA
20	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{13}$TCCA TCTA
20*	TCTA$[TCTG]_5[TCTA]_{12}$TCCA TCTA
21	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{14}$TCCA TCTA
22	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{15}$TCCA TCTA
23	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{16}$TCCA TCTA
24	TCTA$[TCTG]_4[TCTA]_{17}$TCCA TCTA

注：等位基因 15.2、16.1、25、26、27 等的序列未列入

表 15－3　STR 位点 D12S391 各等位基因序列构成

等位基因命名（重复次数）	核心序列构成
15	[AGAT]$_8$[AGAC]$_6$AGAT
16	[AGAT]$_9$[AGAC]$_6$AGAT
17	[AGAT]$_{10}$[AGAC]$_6$AGAT
18	[AGAT]$_{11}$[AGAC]$_6$AGAT
19	[AGAT]$_{11}$[AGAC]$_7$AGAT
19*	[AGAT]$_{12}$[AGAC]$_6$AGAT
20	[AGAT]$_{13}$[AGAC]$_6$AGAT
21	[AGAT]$_{14}$[AGAC]$_6$AGAT
22	[AGAT]$_{13}$[AGAC]$_9$
23	[AGAT]$_{14}$[AGAC]$_9$
23*	[AGAT]$_{14}$[AGAC]$_8$AGAT
23**	[AGAT]$_{16}$[AGAC]$_6$AGAT
24	[AGAT]$_{14}$[AGAC]$_{10}$
25	[AGAT]$_{16}$[AGAC]$_9$
25*	[AGAT]$_{16}$[AGAC]$_8$AGAT
26	[AGAT]$_{17}$[AGAC]$_8$AGAT
27	[AGAT]$_{17}$[AGAC]$_9$AGAT

* 符号表示同样长度的等位基因，其重复次数可以相同，但是有某些核心序列不同，在命名时容易产生混乱（表 15－2 与表 15－3 同）

STR DNA 分型时使用的等位基因阶梯如图 15－1 所示。

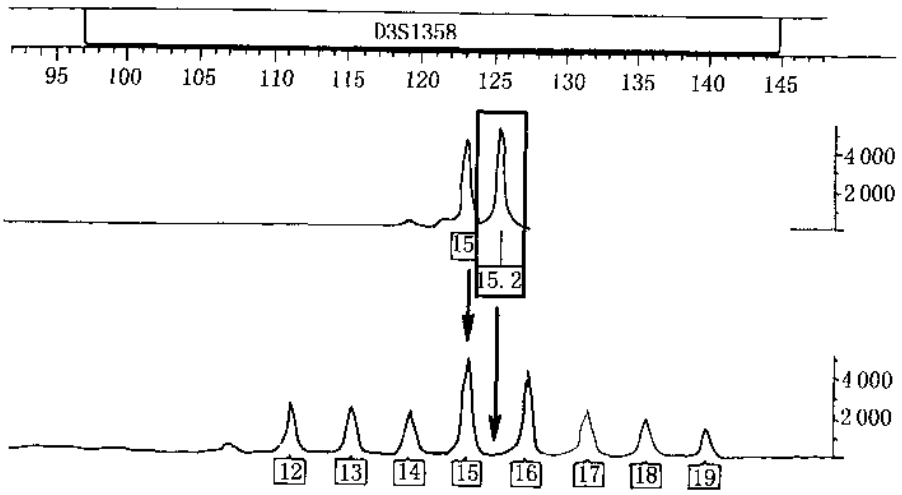


图 15－1　STR DNA 分型时使用等位基因阶梯（ladder）的示意图

(三)识别泳道渗漏造成的假象

在将PCR扩增产物进行电泳分型时,有些凝胶与样本梳之间的密封不完全,加样以后,样本会逐渐渗漏到相邻的泳道中,最后会形成假的等位基因条带。这样形成的假等位基因条带的特点是染色较淡,在其相邻的泳道上有片段长度完全一致的等位基因条带。当见到某个位点的一条泳道上有3条片段时,要注意区分哪些条带是泳道渗漏造成的。

(四)区分影子带(stutter band)

一般真正的等位基因条带染色较浓,而影子带的染色远比其淡,而且影子带总像影子一样或是在等位基因带的上方(多一个重复序列)或是在它的下方(少一个重复序列)。

(五)区分杂合二聚体(heterodimer,heteroduplex)

有时候会在扩增点的等位基因范围之外出现一些条带,而且这些条带的分子质量都比较大,片段较长,染色一般都比较浅。这是由于在PCR过程中不断地变性复性,使不完全配对的2条单链形成异源双链所致。

(六)辨认检材污染(contamination)

在检案时,特别是检测胎儿血(脐带血)的STR基因型时,有可能出现3条DNA片段。他们之间的染色强度可能有差异,这时应考虑胎儿血受母血污染的可能,可以同时做母亲血的检测,比对后就可分清是否母血污染造成的。

(七)嵌合体(mosaic)

嵌合体的发生可以在双胞胎的胚胎早期。由于某种原因使一个胚胎的细胞,特别是造血干细胞进入另一个胚胎中,并且在他的造血组织中着巢。这样的个体则可能有2种DNA类型的血细胞一起在他的血液中流动,检测其血液时就会有2种类型的基因型同时出现。若可能,则同时检测另一个胚胎的基因型,即可证实。

(八)三体综合征(trisomy)

生殖细胞在减数分裂过程中,由于某些原因使这一过程受到干扰,就会形成非单倍体的生殖细胞。由这样的生殖细胞形成的受精卵就会多了一条染色体,成为三体综合征。其中21、18、13和X三体综合征的发生率较高。在作这些染色体上的STR位点分型时,就有可能在1个位点内出现3个等位基因。

最后,需要特别注意的是人类基因组DNA序列存在着民族和人群的差异,使用国外的试剂盒检测时,要避免漏检和错误结果。

三、STR位点DNA组成的民族差异

STR具有高度多态性。与此同时STR序列还具有很高的变异率。这种变异不仅表现在不同民族和不同人种之间,也表现在同一个民族,同一个人类群体之中。其表现的方式可以有2个方面。其一,同一个STR位点的同一个等位基因在不同的人种或民族之间表现不同,例如vWA位点,其等位基因22,在白种人的序列组成如下:

$$TCTA[TCTG]_4[TCTA]_{15}TCCA\ TCTA$$

但是,经过我们检测,中国汉族人的同一个等位基因的序列却不同,其组成是:

$$TCTA[TCTG]_5[TCTA]_{14}TCCA\ TCTA$$

其二,某些STR位点两翼的序列也会发生变异(过去的观点认为串联重复序列两翼的序列是保守的,即人类各个体之间是相同的)。例如,据中山医科大学法医鉴定中心的实践,适合于美洲白种人的PE公司试剂盒中的D8S1179位点,在中国汉族人中使用则有可能将本来是杂合子的个体误认为纯合子的情况。因为某些中国人的第8号染色体的一条,其D8S1179位点重复序列侧翼处有某个碱基发生

变异。PE 公司扩增 D8S1179 位点的引物中有一条的 3′端刚好设计在中国人与白种人不同的侧翼序列处，按照白种人 DNA 序列资料设计的引物无法结合到中国人基因组 DNA 相应位点上去，结果这一条染色体的 D8S1179 位点就没有扩增产物，造成错判。

这种情况在其他一些国家也有类似的报道。Gavrilidis A 等（1999 年）亦报道，无论是 PE 公司 AmpF/STR™ Profiler Plus 试剂盒或 Promega 公司 Power Plex™试剂盒都可能出现扩增失败的现象，特别是 D13S317 和 Amelogenii（性别）位点。这提示，这些个体的 DNA 序列在引物结合的区域有某些序列发生变异。

因此，检测 STR 各个位点的试剂盒国产化就显得尤为重要。并且，在真正推广某些试剂盒之前，必须进行大量的群体调查，用不同的试剂盒进行比对。结论没有出现差错以后才能确认推广，否则容易造成错误。

四、STR 系统的变异现象

澳大利亚的 Gavrilidis A 等（1999 年）统计了 3 年间观察到的母亲－孩子和父亲－孩子遗传过程中 STR 位点的突变情况。他们发现的有突变的 STR 位点有：CSF1PO，TPOX，vWA，F13A01，FES/FPS，D16S539，D7S820，D13S317，D5S818。他认为在检测 15 至 28 个位点的时候，如果只有一个位点与孟德尔遗传规律矛盾，而没有其他的证据排除亲生关系时，就应该认为是突变事件。突变的另一个特点是，亲代与子代突变的 STR 位点的等位基因之间只相差一个重复单位。在澳大利亚的亲子鉴定案例中约有 1% 是突变、变异或等位基因丢失。此时他们会加做 VNTR，DQA1，Y 染色体位点和另外的 17 个 STR 位点。

（一）STR 突变率的分布情况

Weber 和 Wong（1993 年）对 CEPH 家族的细胞株研究中发现，2－、3－、4－核苷酸重复序列位点的平均突变率为 8×10^{-3}；Y－STR 的突变率约 2×10^{-3}。

Brinkmann B 等对 10 844 例“父母/孩子对”的等位基因传递过程调查了 9 个 STR 位点，发现只有 23 次 STR 位点的等位基因遗传有矛盾。上述这些家系的亲权概率（W 值）均 > 0.997 3，突变率为 7×10^{-3}/位点/合子/代。这 9 个位点中有 3 个 STR 位点在这些家系中未发现突变现象。具体突变情况见表 15－4、表 15－5。

表 15－4　白种人 STR 位点等位基因长度与突变率的关系

位点	平均长度*	突变率%	观察的减数分裂数	杂合度
CD4	5.66	0	969	0.67
F13B	8.74	0	1 033	0.67
TH01	7.78	0	2 008	0.78
FES	10.79	0.117	850	0.65
vWA	10.8	0.199	2 013	0.81
D12S391	11.47	0.178	562	0.87
D21S11	11.0	0.18	557	0.86
FGA	13.84	0.41	1 246	0.86
SE33	15.21	0.684	1 608	0.93

* 平均长度指该位点已发现的等位基因的核心序列重复次数的平均值

从上表的情况看，重复序列片段的长度与突变率有明显的关系，片段越长突变率越高。

表 15－5 白种人 STR 位点突变率的一些资料

位点	突变率(突变数/减数分裂次数)
vWA	3.63×10^{-3}(445/122 539)
ACTBP2	6.99×10^{-3}(312/44 627)
CSF1PO	1.2×10^{-3}(150/124 847)
TPOX	4.02×10^{-4}(4/9 946)
TH01	1.1×10^{-4}(2/18 261)
F13A01	1.46×10^{-3}(5/3 427)
FES/FPS	7.38×10^{-4}(45/60 945)
F13B	5.4×10^{-4}(2/3 692)
D16S539	3.15×10^{-3}(2/635)
D7S820	1.43×10^{-3}(8/5 595)
D5S818	1.23×10^{-3}(4/3 265)
LIPOL	9.95×10^{-4}(1/1 005)
D18S849	1.12×10^{-3}(11/9 511)
D12S1090	5.38×10^{-3}(50/9 291)
D3S1744	3.46×10^{-3}(33/9 524)
CYAR04	5.7×10^{-4}(2/3 539)
D18S535	5.66×10^{-4}(3/5 300)

中山医科大学法医物证学教研室几年来的实践证明，中国人群许多 STR 位点的突变情况也相当常见。具体情况参见表 15－6。

表 15－6 中国人群 STR 位点的突变率分布情况

位点	染色体位置	突变数	减数分裂数	突变率%
TPOX	2p23－2pter	0	550	0
D2S1328	2	0	468	0
D3S1539	3	0	118	0
D7S809	7	0	132	0
D8S384	8	0	400	0
D9S112	9	0	128	0
TH01	11p15－15.5	0	1 824	0
D19S433	19	0	320	0

续表 15－6

位点	染色体位置	突变数	减数分裂数	突变率%
D20S85	20	0	72	0
D22S526	22	0	64	0
Penta D	21	0	550	0
D19S253	19	3	2 686	0.111 7
D18S51	18	2	1 690	0.118 3
vWA	12	4	2 964	0.135
D13S317	13q22－31	2	1 436	0.139 3
D5S818	5q23.3－32	2	1 392	0.143 7
D7S820	7q11.21－22	2	1 382	0.144 7
D13S631	13	2	1 108	0.180 5
D16S539	16q24－qter	1	550	0.181 8
SF33	5	3	1 474	0.203 5
D21S11	21	6	2 816	0.213 1
CSF1PO	5q33.3－34	3	1 366	0.219 6
FES/FPS	15q25－qter	1	410	0.243 9
D8S1179	8	6	2 194	0.273 5
D16S690	16	3	936	0.320 5
D6S939	6	2	566	0.353 4
D12S391	12	8	2 192	0.365
FGA	4q28	12	3 190	0.3762
D3S1359	3	2	500	0.4
D11S554	11	10	2 248	0.444 8
Penta E	15	3	550	0.545 5

（引自中山医科大学法医物证学教研室）

（二）STR 突变形式

除了重复次数的改变以外，STR 突变的形式尚有点突变和插入/缺失突变。这些突变多发生于连续的重复序列（简称连续序列，即同一种核心序列连续重复，中间没有插入其他碱基或序列）。

（三）STR 等位基因突变的类型

STR 等位基因突变可分为 3 种类型：一个重复序列突变（one－step mutation）（占 STR 总突变率的 90%），2 个重复序列突变（two－step mutation），多个重复序列突变（multi－step mutation）。

中山医科大学法医物证学教研室曾对 STR 突变的情况进行研究，发现有以下的规律：将近 95% 的突变仅涉及 1 个重复序列的增减，5% 的突变涉及 2 个重复序列；来自父亲的突变与来自母亲的突变比例约为 4:1；发生突变的重复序列的长度都超过 13 个核心序列以上。

基于上述情况，采用 STR 分型来进行亲子鉴定时，选择 STR 位点就显得相当重要。一般可以按照以下的原则进行：①STR 的组成单纯，即同一种核心序列组成，中间没有插入其他碱基或其他类型的核

心序列;②核心序列以 4 个碱基的重复序列为好,在分型中易于辨认;③经过大量的人群调查已经知道该位点在遗传过程中相当稳定,突变率较低;④由中国人群中各个等位基因的分布相对平衡;⑤经过统计学数据处理,证明相关的资料已符合 Hardy - Weinberg 平衡。

(四)STR 突变的相关因素

1. 重复序列长度 重复序列较长的位点突变率较高,尤其是重复次数 > 10 次者(表 15 - 4),观察发现,同一核心序列重复次数 < 10 次者,极少发生突变。因而认为,此类 STR 可应用于人类学的研究,以及种族关系(ethnic - affiliation)的评估。

2. 重复序列是否间断 即串联的同一核心序列之间有无插入不规则序列。间断序列的突变率低于连续序列。典型的例子是 SE33,其连续序列的平均长度为 18 个重复单位,突变率高达 1.2‰。间断序列即使平均长度达 28 次重复单位,其突变率也只有 0.3‰。比如,vWA 位点的突变率就较低。

3. 性别 一般认为男女性别之间 STR 突变率的比例为 17:3。这与生殖细胞发生过程的细胞分裂类型和次数有关。卵原细胞在减数分裂前经过 22 次分裂(DNA 复制);精原细胞则不仅在减数分裂前,有些在减数分裂后精子形成前还要经过多次分裂(DNA 复制)。年纪大的男性的精子较年轻者经过更多的分裂(即 DNA 复制)。例如,一个 29 岁的男人其精原细胞须经过约 350 次分裂才成熟为精子。因此,典型的精子成熟过程要经过的 DNA 复制次数比卵细胞多了 16 倍,发生突变的机会就比较多,相比之下,女性传递 STR 的突变率就较低。因此可以说,大多数 STR 遗传突变是由男性引起的。这一现象与其他动物种属中观察到的情况吻合。发现突变事件的案例中,父亲的年龄平均为(32.5 ± 7.8)岁。

其他的灵长类动物也有重复序列,但其重复次数一般比人类的少。

(五)微卫星 DNA 不稳定性及杂合性缺失

微卫星 DNA 不稳定性(microsatellite instability,MSI)是微卫星 DNA 的另一个突出的特点。所谓不稳定是指在同一个体的不同组织之间,同一个 STR 位点的重复次数会表现不同。还有一种情况是杂合性丢失(loss of heterozygosity),即在一些患者,特别是一些肿瘤患者,检测其淋巴细胞和肿瘤组织,就会发现在某 STR 位点本来是杂合子的个体,但在其肿瘤组织中会失去某个等位基因,表面上变成纯合子个体。也曾有人称 LOH 为等位基因不平衡(allelic imbalance),但我们认为,这个概念容易与 MSI 造成混淆,应尽量避免这样重复命名。

第四节 DNA 指纹

DNA"指纹"是指某个体基因 DNA 序列的个人标志性特征。该个体可借此特征与其他人区分开来。这些特征是惟一的,世界上除单卵双生的 2 个人之外,没有任何 2 个人的 DNA 序列特征是完全一样的,因而它和人们熟悉的,用来进行个体辨认的手指指纹特征有同样的意义。这一现象首先是由英国遗传学家 Jeffreys 等于 1985 年发现的。当时,他使用的是限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism,简称 RFLP)技术。先将人的完整的基因组 DNA 抽提出来,用某种限制性核酸内切酶将其酶解。由于各人 DNA 序列组成不同,用同一种内切酶消化不同人的 DNA 时,就会被酶解成不同长度的 DNA 片段。酶解产物经电泳、变性、转移印迹到硝酸纤维素膜上固定以后,再用标记了放射性同位素的特殊 DNA 探针(Jeffreys 等使用人肌红蛋白基因内含子中的一段重复序列)与之杂交,放射自显影后,就能将这些因人而异的 DNA 片段显示出来。由于这些 DNA 片段的长度和数量完全是个体特异的,2 个无关个体具有完全相同的 DNA 条带的几率只有 $10^{-10} \sim 10^{-13}$,因而其辨认个体的能力大于普通指纹,故称为 DNA 指纹。

这一发现在遗传学和法医学界引起了轰动。紧接着,许多学者采用不同的限制性内切酶和各自的 DNA 探针,也能显示出具有个体特异的 DNA 指纹图。我国伍新尧、罗超权、李伯龄等于 1988 年也相继采用各自的方法建立了检测人 DNA 指纹的技术。但是,由于 RFLP 技术的程序较为复杂,要求较高,实

验周期长，所以难于推广。

1990 年，Williams 等采用一种特殊的 PCR 技术，同样能揭示个体的许多特异性 DNA 条带。依靠这种方法可以区分不同种属的动植物，也能鉴别同种植物中的不同株。这一技术就是随机引物 PCR 技术。1996 年，伍新尧等利用这一技术成功地检测出具有个体特异的 DNA 指纹图。他们称之为 APHDF（arbitrarily primed PCR human DNA fingerprinting）技术。与 RFLP 技术相比，它具有简便，快捷，易于掌握，经济等许多优点。

现在，一次使用多个位点的 STR 分型技术，其分辨率也能达到前面所讲的 DNA 指纹的效果。特别是采用多色荧光标记技术，利用 DNA 自动分析仪，一次检测 10 个或 16 个 STR 位点的试剂盒，其个人认定的效果完全可以和最早的 DNA 指纹相媲美。利用多色荧光标记技术，还可以进行基因组扫描，因此，现在许多实验室都在使用这样的试剂盒。

归纳起来，下列技术都可以用来作 DNA 指纹分析。

1. RFLP 技术　首先要将完整的基因组 DNA 抽提纯化，再用某种限制性核酸内切酶将其消化，电泳使 DNA 片段按大小排列。变性后转移印迹到硝酸纤维膜或尼龙膜上并固定，然后用标记好的特定核酸探针与之进行杂交，经过放射自显影或显色，就可以显示出许多不同大小的 DNA 条带。不同人所具有的 DNA 条带在数量和大小上都有明显的差异。这一方法显示的 DNA 指纹图谱清晰易读。但是，它对大分子的模板 DNA（一般需要 1～5 μg）要求严格，对技术人员的要求高，实验室的设备复杂，操作程序繁多，实验周期长（一个实验流程需要 1 周以上），成本高。

2. APHDF 技术　即随机引物 PCR 检测人 DNA 指纹技术。这一技术只需按人基因组 DNA 的结构特点设计出 10 个碱基长的 DNA 片段作为引物，在普通 PCR 条件的基础上严格掌握各种反应参数，经过 30～35 个热循环扩增，将 PCR 产物经高分辨力的聚丙烯酰胺凝胶上电泳或经高分辨力的毛细管电泳分离，即可得到具有个体特异性的 DNA 指纹图。这一技术要求的实验条件较为严格，特别是引物、dNTPs 和 Taq DNA 聚合酶的比例要合适，热循环的参数要恰到好处。同 RFLP 技术一样，APHDF 技术一样要求大分子的 DNA 模板，否则，扩增得到的 DNA 片段数量会减少，其个体识别力将下降。

3. 复合扩增 STR 分型技术　用具有多态性的 STR 多个位点（一般同时用 10～16 个位点），分别按等位基因片段大小的分布搭配成组，每组包含有 3～4 个位点（图 15－2）。各组用不同的荧光素进行标记。然后一起扩增，一起进行电泳分型（在具有激光和不同颜色荧光识别能力的机器中电泳，如 PE 公司的 ABI 377 DNA 自动分析仪）。依靠分析软件，可以同时分析所有这些位点的基因型。其分辨力可以达到 10^{-12}，因而可以获得个体特异的 DNA 指纹图。

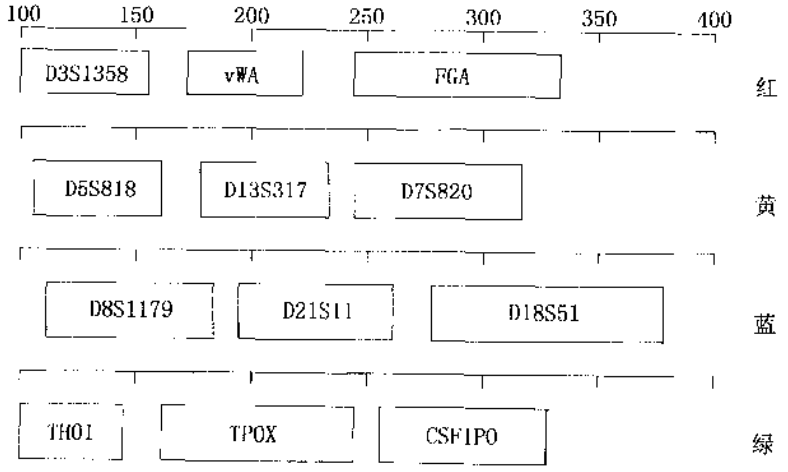


图 15－2　多色荧光标记 STR DNA 分型示意图

值得一提的是，上述前 2 种方法制备出来的 DNA 图谱是以整个基因组 DNA 为基础的，其中表现出来的 DNA 条带并不按照某个位点的等位基因的方式出现。因此在分析这些 DNA 图谱时，不能用孟德尔规律的思路去分辨哪一半来自父亲，哪一半来自母亲。但微卫星 DNA 位点则要用等位基因的方式去分析。

由于 DNA 多态性的分析具有很高的理论和应用价值，许多科研机构和公司投入大量的资金和人力研究有关方面的新技术。其中 DNA 芯片技术和 SNP 分析技术最为引人注目，本书特意分节进行介绍。

第五节　人类线粒体 DNA 多态性

一、线粒体 DNA 概述

几乎人体的每个细胞都含有许多线粒体（mitochondria）。线粒体是胞质中一种较小的细胞器（subcellular organelle），是细胞的“发电站”。早在 20 世纪 60 年代初就发现线粒体可自我复制。60 年代末确定线粒体有自己的 DNA。

（一）结构

人类线粒体 DNA（mitochondrial DNA，mtDNA）为双链环状，大小为 16 569 bp。其中内侧一条链称为轻链（light strand chain，L－strand），外侧一条链称为重链（heavy strand chain，H－strand）。1981 年 Anderson 等测出了其全部序列。

mtDNA 由编码区（coding region）和非编码区（non－coding region）构成。编码区编码参与线粒体蛋白质合成的 RNA（16 S rRNA、12 S rRNA 和 22 种 tRNA）及参与氧化磷酸化的 13 种多肽。非编码区又叫 D 环区（dispalcement－loop region）或控制区（control region），在复制起始点附近，包括 H 链复制起始区、D 环（D－loop）和 H 及 L 链转录启动子序列。在约 1 100 bp 的非编码区有 2 个高度变异的区域称 HV1 区（hypervariable region 1）和 HV2 区（hypervariable region 2），见图 15－3。

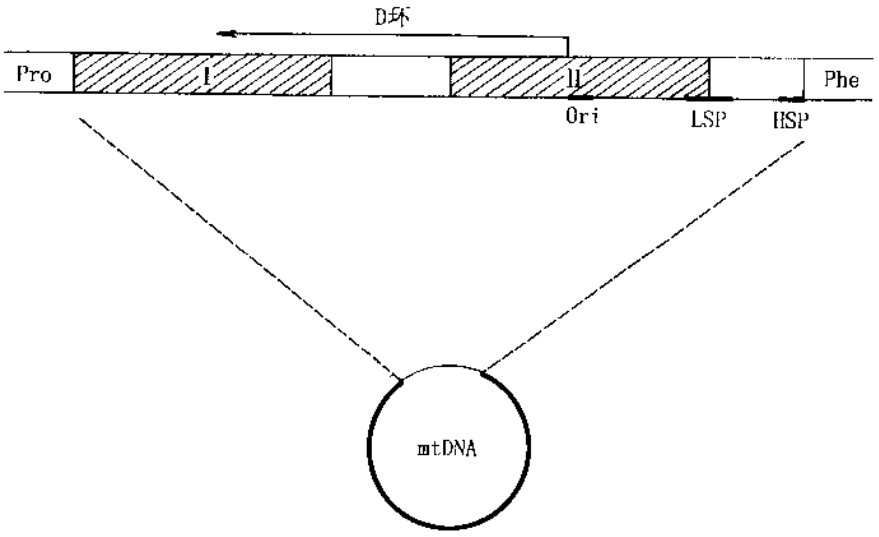


图 15－3　mtDNA 非编码区示意图

圆环细线部分代表非编码区，Pro：$tRNA^{pro}$ 基因；Phe：$tRNA^{phe}$ 基因；斜线部分 I 和 II 分别代表 HV1 和 HV2 区；Ori：复制起始点；LSP：轻链转录启动子；HSP：重链转录启动子

(二)特性

mtDNA 是独立于细胞核基因组而存在于细胞质中的一组双链环状 DNA 分子,有着与核 DNA 不同的特性,见表 15-7。

表 15-7 mtDNA 与核 DNA 特性比较

mtDNA	核 DNA
闭合的环状分子	线状分子
大小为 16 569 bp	约 30 亿 bp
约有 1 100 bp 非编码区	基因组大部分为非编码区
母系遗传	孟德尔方式遗传
不发生重组	发生重组
每个细胞含 50 至几千个拷贝	每个细胞含 1 个拷贝

二、线粒体 DNA 多态性

由于较高的复制错误率和较低的修复能力,mtDNA 特别是非编码区具有较高的多态性,即个体间存在差异。mtDNA 序列比核 DNA 序列进化速度快 6~7 倍。如在 HV1 和 HV2 区,美洲黑人(African Americans)人与人之间平均有 14 个位点不同,就是被认为多态性较低的美洲白人(Caucasians),人与人之间平均也有 8 个位点不同。

(一)多态性位点分布

mtDNA 分子存在着广泛的变异,包括编码区和非编码区,其中约 1 100 bp 的非编码区内存在 2 个高度变异区,即 HV1 区(位于 16 024~16 365 nt)和 HV2 区(位于 73~340 nt)。Cann RL 等(1984 年)研究表明,mtDNA 的 tRNA 和 rRNA 基因与编码蛋白质基因的点突变发生水平一致,但低于非编码区。

(二)多态性分类

主要有 2 类:序列多态性和长度多态性。

1. 序列多态性　由于 DNA 分子碱基的转换(transition)或颠换(transversion)而导致个体间碱基序列的差异称序列多态性(sequence polymorphism)。碱基转换是最常见的变异形式。Baasner 等(1998 年)对来自德国西部群体的 50 个无关个体的 HV1 和 HV2 区进行了测序研究,报道转换与颠换的比率 HV1 和 HV2 区分别为 100∶5,135∶0。

2. 长度多态性　由于 DNA 分子碱基的插入(insertion)或缺失(deletion)而导致个体间 DNA 分子长度的变异称长度多态性(length polymorphism)。Cann RL 等(1983 年)采用 RFLP 方法,分析了 112 个个体 mtDNA 分子,在 mtDNA 分子的 9 个区域发现了长度多态性,表现为 6~14 碱基的插入或缺失,如图 15-4。长度变异易发生在长的多聚单核苷酸区(long homopolymer tract),特别是多聚胞嘧啶核苷酸区。如 HV1 区在 16 184 nt 和 16 193 nt 之间有一个多聚的胞嘧啶区,见图 15-5,若在 16 189 nt 位置的 T 突变为 C,就形成一个长的多聚胞嘧啶区。Bendall K.E 等(1995 年)报道,所有发生 16 189 $nt^{T\to C}$ 突变的个体该区都表现为长度变异,胞嘧啶数目主要表现为 11、12(Anderson 参考序列为 10)。中山医科大学法医学系对广州地区汉族群体 171 个无关个体的 mtDNA HV1 区进行了测序研究,发现有 2 例在 16 188 nt、16 189 nt 之间插入 2 个 C。

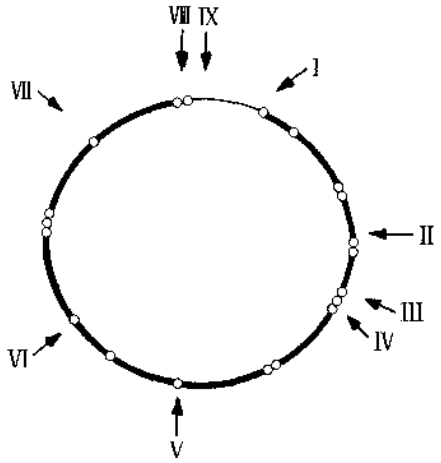


图 15-4 mtDNA 9 个表现为长度多态性区域的位置
粗线表示编码蛋白质和 rRNA 的基因，小圆圈表示编码 tRNA 的基因，细线表示 mtDNA 的非编码区

16 189 nt

CACATCAAAA CCCCCCTCCCCATGCTTA

图 15-5 mtDNA HV1 区的一段序列

由于 mtDNA 为母系遗传，不发生重组，对于每一个个体，mtDNA HV1 和 HV2 区所有核苷酸的变异被视为某一种 mtDNA 类型。

群体遗传变异率(度)(genetic diversity)的计算是基于 mtDNA 的类型数即 $h = (1 - \sum x^2)n/(n-1)$，n 表示样本数，x 为群体中每一种 mtDNA 类型的频率。群体中随机选择 2 个个体具有相同 mtDNA 类型的几率即偶合率(match probability) $p = \sum x^2$。

三、线粒体 DNA 多态性检测方法

(一)RFLP 法

RFLP 是指限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphisms)。RFLP 法检测 mtDNA 多态性的原理：由于 mtDNA 分子的突变(主要是碱基的替代)可导致某些限制性内切酶(restriction endonuclease，RE)识别位点的获得或丢失，不同个体的 mtDNA 用同一种限制性酶消化可形成不同的酶切片段图谱。Cann RL 等(1984 年)采用 12 种限制性内切酶，对 112 个个体的 mtDNA 进行酶切分析，发现有 163 个位点具有多态性。Pai CY 等(1997 年)先用一对引物在非编码区扩增出 2 个较短的 DNA 片段(分别为 281 bp 和 237 bp)，再用酶消化，揭示出中国人有 52 种 mtDNA 类型，具有高度多态性。

(二)SSO 杂交法

SSO 杂交法是根据 mtDNA 序列的变异，设计出一套序列特异性的寡核苷酸探针(sequence specific oligonucleotide probes)，长为 15～20 bp，每一探针含有 1 个或 2 个 mtDNA 序列 HV1 和 HV2 区可能出现变异的碱基。采用斑点杂交法或反向斑点杂交法进行检测。Stoneking M 等(1991 年)将 SSO 杂交法成功地用于 1 例个体识别案例分析，其结果通过 mtDNA 序列分析得到证实。SSO 杂交法简单、快速，可用

于人类群体遗传学研究及个人认定。其缺点是检测的 mtDNA 序列变异是有限的，个体识别力不高。

(三) PCR－DNA 自动测序

在 20 世纪 90 年代以前，对 mtDNA 多态性分析主要应用 RFLP、SSO 杂交法及 SSCP 分析法，但是 mtDNA 序列多个位点的核苷酸变异需要更精确的方法检测。目前，主要采用 PCR－DNA 自动测序的方法分析 mtDNA 多态性。

1. mtDNA 序列分析模板准备　mtDNA 的抽提：一般血或新鲜组织可用 chelex100 抽提，骨、毛发等可采用有机溶剂法。PCR 扩增多采用二步 PCR 扩增。先用一对引物扩增出包含 HV1 和 HV2 区的一段约 1 kb 的非编码区，第 2 次扩增则以第 1 次 PCR 产物为模板，分别扩增 HV1 及 HV2 区。对于高度腐败的生物样品，有作者提出小片段扩增策略(mini－primer set，MPS)，在 HV1 和 HV2 区分别设计 4 对引物，扩增出 4 个互相重叠的包括 HV1 或 HV2 区的 DNA 片段，平均大小为 141 bp，见图 15－6。据报道该法可大大提高扩增成功率。

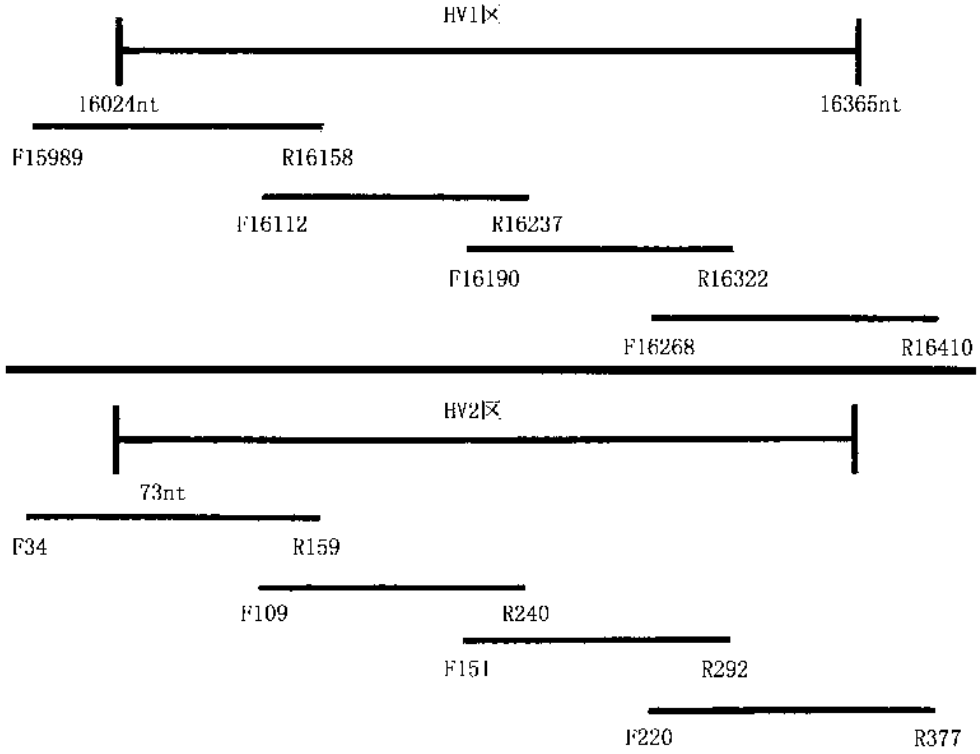


图 15－6　高度腐败的生物样品的小片段扩增策略

2. DNA 自动测序　一般采用荧光标记的循环测序法。其原理是利用 Sanger 双脱氧末端终止法、循环测序和荧光标记 3 种技术的结合。

(1)Sanger 双脱氧末端终止法　DNA 聚合酶以单链 DNA 为模板合成互补的 DNA 链，见图 15－7。DNA 聚合酶不能起始 DNA 的合成，需要有事先与 DNA 模板结合的寡聚核苷酸引物，按照碱基配对的原则，将脱氧核糖核苷酸(dNTP)底物加到引物的 3′末端，通过引物的 3′－OH 与 dNTP 的 5′－磷酸基团，生成磷酸二酯键而实现链的延长，其方向由 5′到 3′。DNA 聚合酶也可掺入脱氧核糖核苷酸类似物。如果在这一反应体系中加入 2′，3′－双脱氧核糖核苷酸底物(2′，3′－ddNTP)，因 2′，3′－ddNTP 在脱氧核糖的 3′位置上缺少一个羟基，若其在 DNA 聚合酶的作用下通过其 5′－磷酸基团掺入到正在延伸的 DNA 链中，但由于没有 3′羟基，则不能同后续的 dNTP 形成磷酸二酯键，使得 DNA 链的延伸就此终止。由于 ddNTP 与 dNTP 的竞争，反应产物是一系列长度相差一个碱基的 DNA 片段。电泳后染色，就可以直接“读出”碱基顺序。

(2)荧光测序　荧光测序是采用4种不同的荧光染料分别标记4种 ddNTP 或引物,经 Sanger 测序反应后,产物3′端(荧光标记 ddNTP)或5′端(荧光标记引物)带有不同颜色的荧光,一种荧光染料对应一种碱基,见彩图15-1,如红色荧光染料对应T,这样终止于4种碱基的混合 DNA 片段可以在一个泳道内电泳,从而降低了测序泳道间迁移率差异对读出序列精确性的影响。

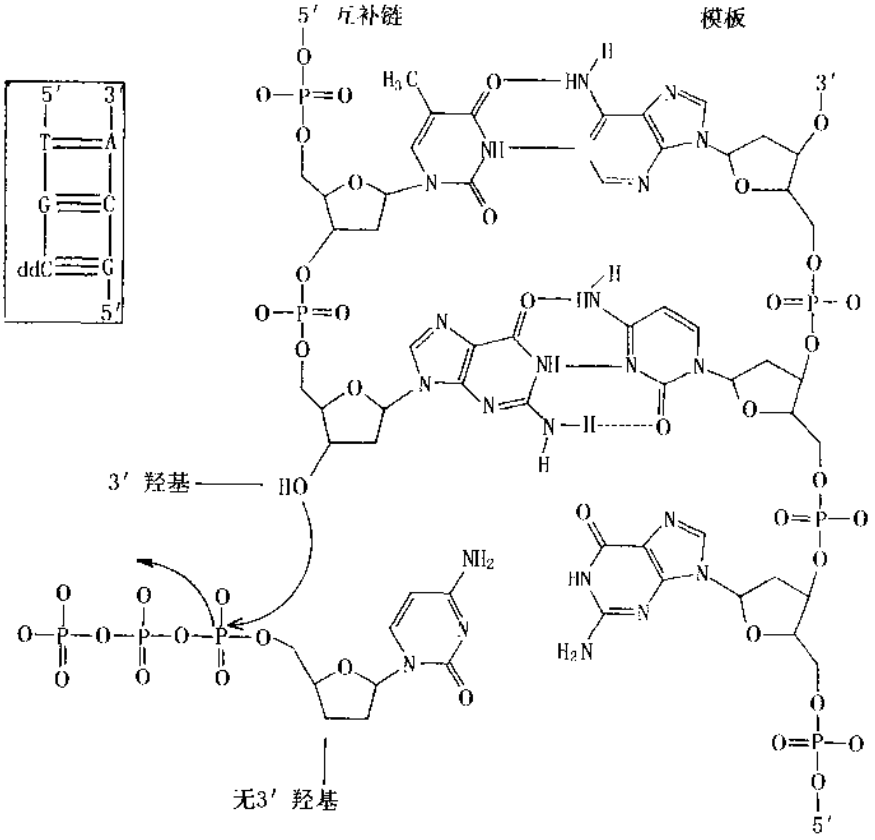


图 15-7　DNA 链的合成

由于 ddCTP 取代 dCTP,使 DNA 链的合成终止

荧光标记引物和荧光标记 ddNTP 各有其优缺点,见表15-8。

表 15-8　荧光标记引物和荧光标记 ddNTP 的优缺点比较

	标记引物	标记 ddNTP
优点	信号强度更均一,可标记通用引物,用于不同目的 DNA 片段测序	可使用未标记的引物测序,测序反应在1个反应管中进行
缺点	测序反应在4个反应管中进行	有时某种荧光信号会很弱,导致读序错误

(3)循环测序　循环测序反应(Cycle Sequencing)类似于 PCR 反应,将反应管置 PCR 仪上进行变性(denaturation)、退火(annealing)、延伸(extension),循环25~30次。但它与 PCR 反应有着本质的不同(彩图15-2):①反应体系除酶、dNTPs、缓冲液、模板和引物外,需加终止剂 ddNTPS,且引物不是 PCR 扩增时用的一对引物,而是其中的一条引物;②循环测序反应经过变性、退火和延伸,由于 ddNTP 的掺入,形成的是随机终止于 ddA、ddT、ddC 或 ddC 的大小不同的 DNA 片段。

循环测序的优点:①简单、易操作;②由于变性使原先的模板与产物分离,再作为测序模板,因此所需

模板 DNA 量少，一般只需要 PCR 产物 3～10 ng；③循环测序经 95～96 ℃高温变性，可减少模板的二级结构，使延伸反应更充分；④同一方法适合于双链及单链 DNA 测序；⑤PCR 产物可直接测序，效果好。

3. 结果分析　序列分析结果可以凝胶电泳图谱、荧光吸收峰图谱或碱基排列顺序等多种形式输出。法医检案时，需用一个已知序列的个体样本（血或唾液）同时进行 mtDNA 分析，并设立阴性对照。分析员首先评估每个凝胶电泳图谱、荧光吸收峰图谱是否能进行序列分析。将所得样本的 mtDNA 序列（轻链序列）输入比较程序（sequence navigator），与参考序列比较。图 15－8 显示 1 例亲子鉴定案中母和子的血 mtDNA HV1 区序列比较，两者有 7 个碱基不同。若犯罪现场提取的样本与犯罪嫌疑人样本的 mtDNA 序列完全相同，则要计算该群体 2 个无关个体该种 mtDNA 序列偶合率。有作者报道，同一个体不同组织或同一母系的个体 mtDNA 序列会有 1 个或 2 个碱基不同，也会有 3 个碱基不同，但很少见。且认为其原因为体细胞突变、生殖细胞突变或异质性。因此，若 2 个样本的 mtDNA 序列只有 1 个或 2 个碱基的差异，不要轻易下排除结论，需取犯罪嫌疑人的多根头发、唾液、血液等样品进行 mtDNA 序列测定以排除异质性的可能。有作者提出 mtDNA 序列分析时，一般次峰的峰高达主峰 40% 以上时，则表明有异质性。若 2 个样本在同一位置出现相同的异质性，即增加同一性认定的准确性。有的实验室规定 2 个样本有 6 个或 6 个以上碱基不同，则可排除 2 个样本来自同一个体。结果分析需 2 个分析员独立进行，若两者结果一致，则可发报告。若两者结果不一致，需重新进行样本 DNA 抽提、PCR 扩增及测序。结果分析时需考虑疾病因素的影响，有些疾病如某些心肌疾病与 mtDNA 突变有关，应了解当事人的健康状况。

```
        130        140        150        160        170        180
ATGTATCTCG TACATTACTG CCAGCCACCA TGAATATTGC ACGGTACCAT AAATACTTGA
-----**--- ---------- ---------- ---------*- ---------- ----------
ATGTACTTCG TACATTACTG CCAGCCACCA TGAATATTGT ACGGTACCAT AAATACTTGA
        190        200        210        220        230        240
CCACCTGTAG TACATAAAAA CCCAATCCAC ATCAAAACCC CCTCCCCATG CTTACAAGCA
---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ----------
CCACCTGTAG TACATAAAAA CCCAATCCAC ATCAAAACCC CCTCCCCATG CTTACAAGCA
        250        260        270        280        290        300
AGTACAGCAA TCAACCTTCA ACTATCATAC ATCAACTGCA ACTCCAAAGC CACCCCTCAC
---------- ---------- -------*-- ---------- ---------- ----------
AGTACAGCAA TCAACCTTCA ACTATCACAC ATCAACTGCA ACTCCAAAGC CACCCCTCAC
        310        320        330        340        350        360
CCACTAGGAT ACCAACAAAC CTATCCACCC TTAACAGTAC ATAGTACATA AAACCATTTA
---------- ---------- ---*------ ---------- ---------- --*-------
CCACTAGGAT ACCAACAAAC CTACCCACCC TTAACAGTAC ATAGTACATA AAGCCATTTA
        370        380        390        400        410        420
CCGTACATAG CACATTACAG TCAAATCCCT TCTCGTCCCC ATGGATGACC CCCCTCAGAT
---------- ---------- ---------- -----*----- ---------- ----------
CCGTACATAG CACATTACAG TCAAATCCCT TCTCGCCCCC ATGGATGACC CCCCTCAGAT
```

图 15－8　1 例亲子鉴定案中母和子的血 mtDNA HV1 区序列比较

上：母 HV1 区序列；下：子 HV1 区序列；*表示不同的碱基；－表示相同的碱基

四、线粒体 DNA 多态性分析的应用

（一）在法医学上的应用

目前，核染色体上的遗传标记 STR 的分型检测已成为法医物证检验中强有力的手段，但也有其局

限性。作案现场只发现有头发或长期暴露于外界环境的骨骼，这些检材中核DNA含量很少或降解，无法进行STR分型。在这种情况下，mtDNA检测为法医DNA分析提供了一个有效的手段。

1. mtDNA的特点

(1)多态信息含量高　mtDNA的非编码区特别是HV1和HV2区高度多态性使得个体间或生物样品间具有高度的个体特异性。Seo Y等(1998年)对100个无关个体的HV1和HV2区进行序列分析，发现了96种单倍型，遗传变异率h为0.999，偶合率P为0.011。

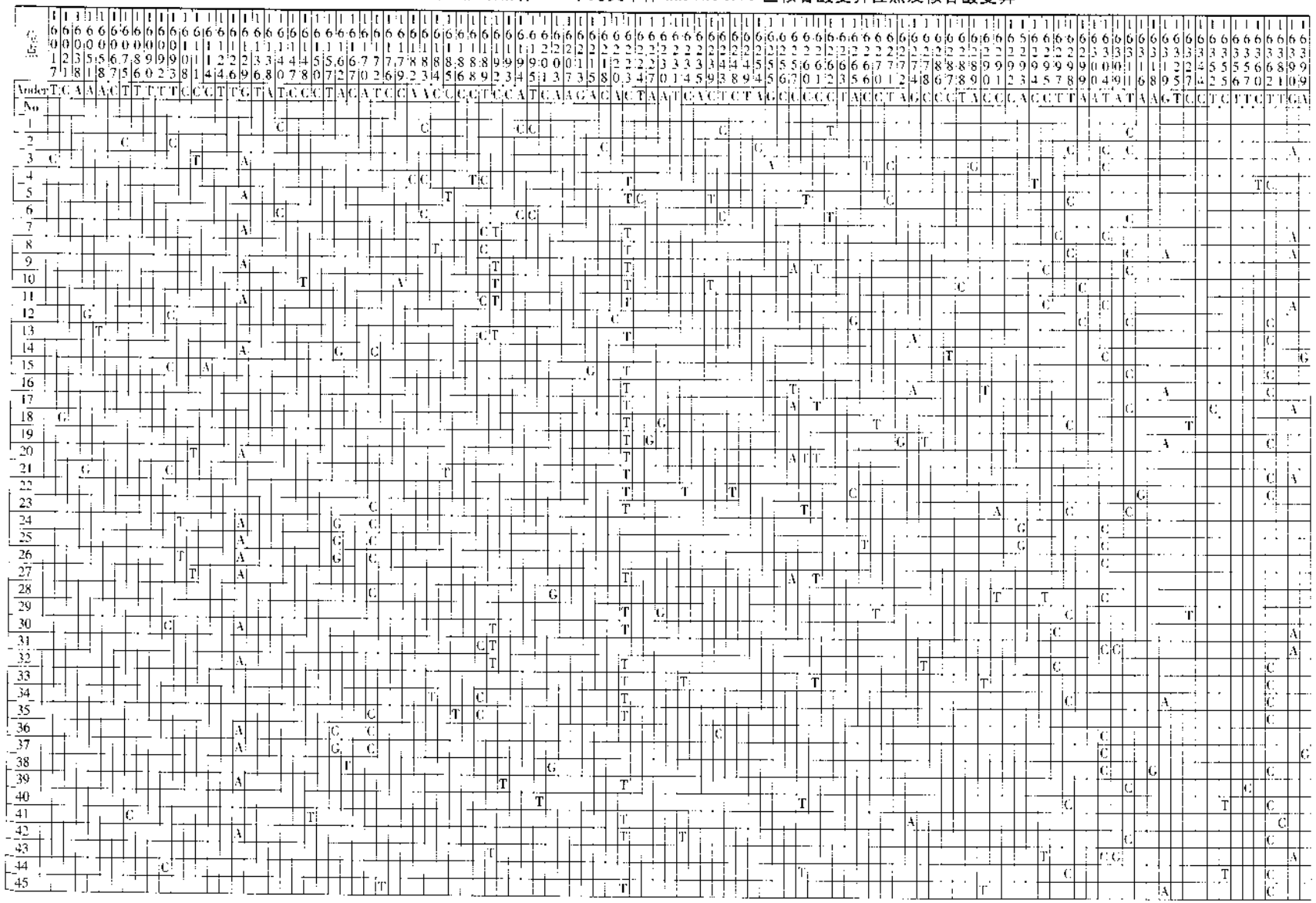
(2)高拷贝数　与每个细胞含1套拷贝的核DNA相比，mtDNA每个细胞含成百上千个拷贝。对于微量、降解的生物样品，获得完整的mtDNA比核DNA的可能性大，这为法医DNA分析提供了一个理想的DNA来源。对于陈旧骨骼、高度降解或烧焦的残骸及单根毛发等样品的个人认定作mtDNA检测的价值较高。

(3)母系遗传　除突变外，同一母系的个体具有相同的mtDNA序列。一般而言，几代内mtDNA基因型的传递是稳定的。因而在有些情况下，如遗骸的个人认定或一个失踪的人无法提供参考样本，可用其母亲、兄弟姐妹等血液作为参考样本。

2. 在法医物证检验中的应用　Higuchi R等(1988年)对单根毛干mtDNA的非编码区直接测序时，发现其多态性。从此，人们开始注意到mtDNA多态性在法医个人识别方面的应用价值。Orrego等(1990年)报道了以mtDNA的PCR扩增片段进行测序的研究及以此方法来进行母系单亲亲子鉴定的可能。Orrego等人的工作是以放射性同位素测序法来完成的。Sullivian(1991年)使用PCR扩增结合DNA荧光测序进行个体识别。他于1992年将该法运用于法医学检案，通过将1例高度腐败女尸毛发、皮肤、骨片与一位妇女血样本的mtDNA序列比较，发现二者序列完全一致，从而判定女尸是该妇女失踪的妹妹。Holland等(1993年)用mtDNA测序法对1984年越南归还的越战身亡美国士兵的残骸成功地进行了身源鉴定。这些残骸遗存于自然环境下长达24年之久。Gill P等(1994年)报道，俄国法医学家对1991年在Ekaterinburg一座墓地发现的可能是沙皇及其家庭成员的9具残骸进行了mtDNA分析，发现疑为沙皇皇后及其3个孩子的mtDNA序列与现存的同一母系亲戚的mtDNA序列完全一致，证实这些残骸是沙皇家族成员的遗骸。国内，张纯斌等(1995年)报道用PCR一步扩增结合DNA荧光测序对mtDNA HV1区的研究。刘冰等(1999年)报道了用套式PCR及末端荧光标记DNA测序法，对脱落毛发mtDNA HV1区进行序列分析，并用于实际案例。中山医科大学法医学系亦曾用mtDNA HV1区测序证实ABO血型遗传变异的母子关系。该案情是一出生后3个月的男孩，因需要输血而检验出其血型为A型，同时检出父亲的血型为B型，母亲的血型为O型。这对夫妇被告知他们之间不会生出A型的小孩，于是怀疑医院换错婴儿，而要求进行亲子鉴定。检测vWF基因40内含子VNTR和SE33、D11S554、D19S253、D12S391、D13S631、PLA2、TH01、FGA、D7S809、FESFPS、CSF1PO等12个常染色体STR，均不能排除有争议孩子与父亲或母亲之间的亲权关系。有争议孩子与母亲血mtDNA HV1区序列完全相符。

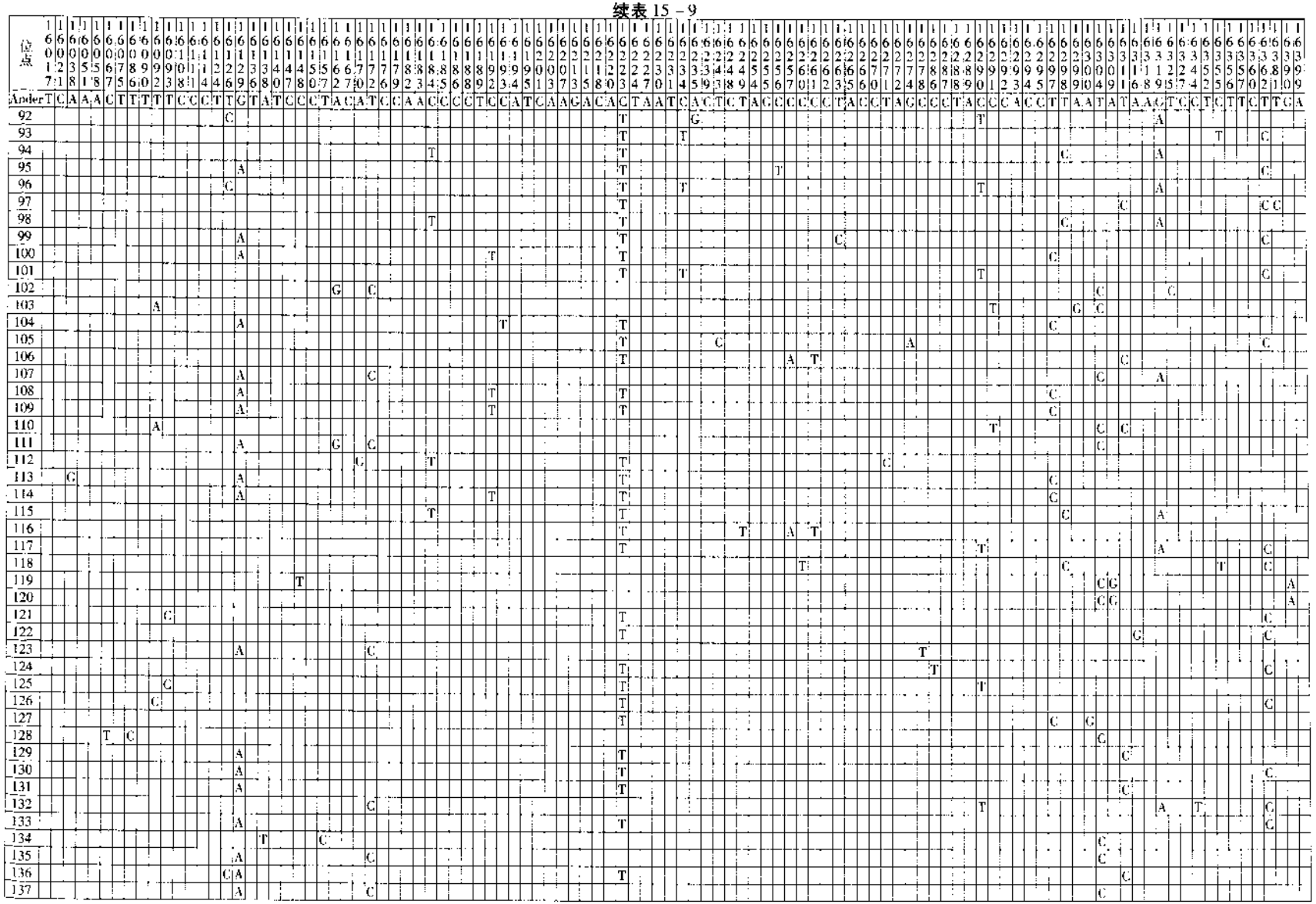
中山医科大学法医物证实验室采用PCR产物直接测序法(荧光标记ddNTPS的循环测序法)对广州地区汉族群体171个无关个体的mtDNA HV1区多态性进行了研究，得到这171个个体mtDNA HV1区核苷酸变异位点及核苷酸的变异，见表15-9。在HV1区共有107个位点发生核苷酸变异，平均每个个体4~5个位点(最少1个，最多8个)发生变异。有3个个体HV1区序列与Aderson参考序列完全一致。核苷酸变异主要表现为转换，其次为颠换，两者之比约为23:1。171个无关个体有129种mtDNA类型，5种mtDNA类型有2个或2个以上个体共有，其中最常见的一种mtDNA类型有10个无关个体共有。表15-10列出了广州地区汉族与日本、韩国及德国西部群体HV1区多态性资料。各群体h、p值比较表明广州地区汉族群体mtDNA HV1区具有较高的多态性，可用于个体识别，2个无关个体具有相同mtDNA类型的几率为0.012。

表 15-9　广州地区汉族群体 171 个无关个体 mtDNA HV1 区核苷酸变异位点及核苷酸变异

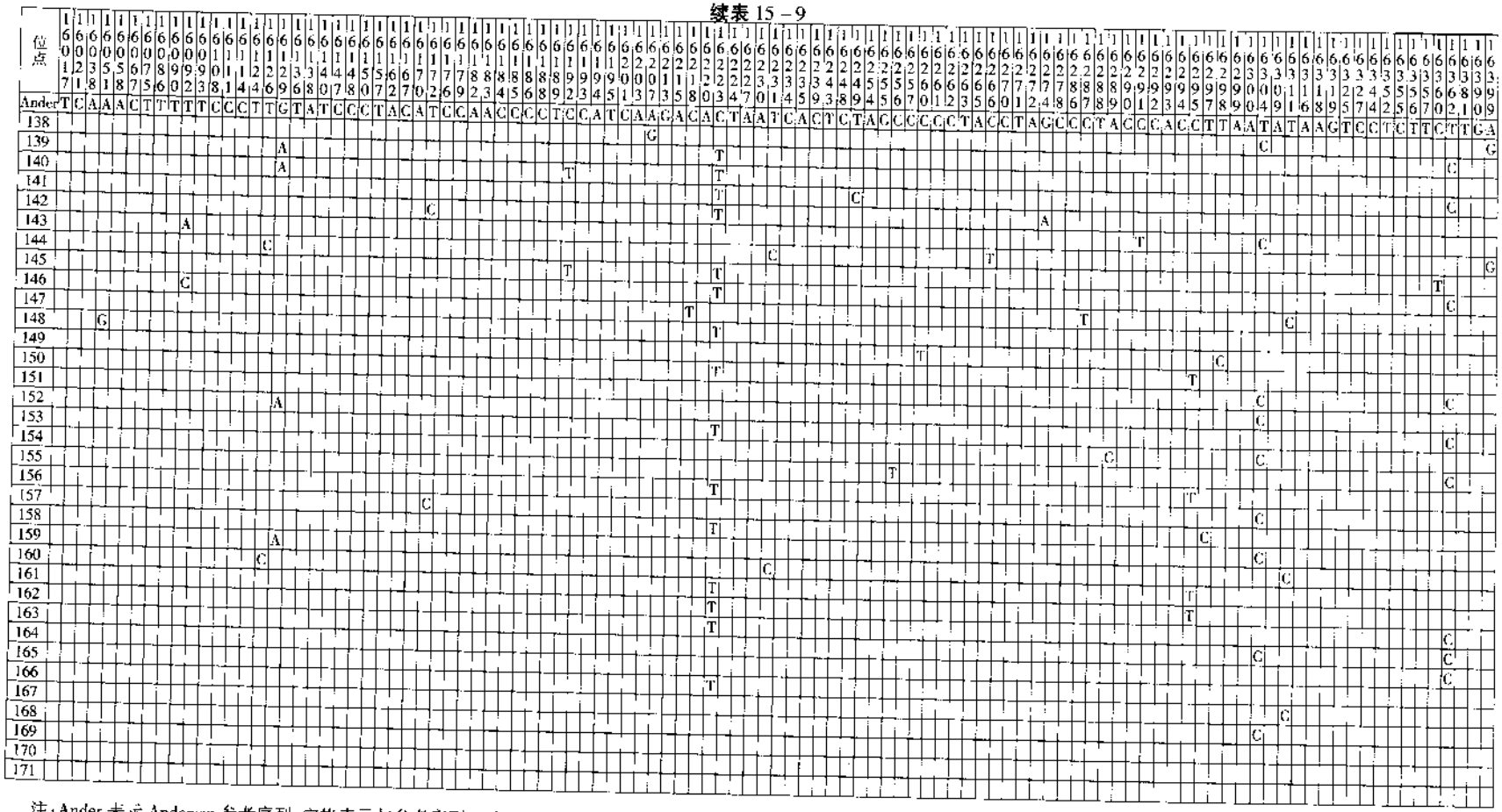


续表 15-9

续表 15－9



续表 15－9



注：Ander 表示 Anderson 参考序列，空格表示与参考序列一致

表15－10　各群体mtDNA HV1区多态性资料

群体	样本数	变异位点	mtDNA 类型	h*	p*
广州地区汉族	171	107	129	0.993 5	0.012
日本	100	85	78	0.985	0.025
韩国	306	139	221	0.930	0.072
德国(西部)	50	52	35	0.930 6	0.044

*h代表群体遗传变异率；*p代表偶合率

3. 局限性　mtDNA 作为法医 DNA 分析的一个遗传标记，也有其局限性。

(1)个体识别率低　mtDNA 为母系遗传，即同一母系的所有个体理论上具有相同的序列。因此，mtDNA 不能作为绝对个人认定的遗传标记。事实上，在人类历史发展的某一时点，这些明显无关个体可能享有同一的一个未知的母系(即共同祖先)。相比而言，多位点的核 DNA 分型系统提供极高的个体识别率，可鉴别任何一个个体。mtDNA 序列分析无法达到核 DNA 分型系统那样高的个体识别率。正因为如此，mtDNA 分析多用于核 DNA 分型无法进行或失败的样品。

mtDNA 序列分析一般用于下列情况：①无毛囊附着的脱落毛发；②毛干；③骨骼、牙齿或指甲样本；④核 DNA 分型失败的各种样本；⑤核 DNA 分型失败的皮肤、肌肉或器官样本。对于带毛囊的毛发，可将发根与毛干分开，进行发根总 DNA 抽取(包含核 DNA 和 mtDNA)，首先进行核 DNA 分型，如果由于核 DNA 量少或降解，可进行 mtDNA 分析。毛干只能进行 mtDNA 分析。

(2)序列变异未完全搞清　目前，已报道的人类 mtDNA 序列数据尚少，有 2/3 新报道的 mtDNA 序列是新的，所以人类群体中的所有 mtDNA 序列的变异情况远未搞清楚。

(3)操作要求严格且耗时　值得注意的是 mtDNA 序列分析在法医 DNA 分析中操作最严格且耗时。国外有实验室报道，一般每个月每个分析员做 1～2 例案例。

4. mtDNA 序列分析中两大主要问题

(1)污染　mtDNA 测序所用的检材多为在不同环境下搁置过，如浸泡入水中、土埋、焚烧等，或丢弃的骨头、牙齿、毛发等，其 DNA 含量少，通常需多次扩增，易受污染。污染主要来源有：①检材本身搁置在污染环境或在提取现场的检材时，保护不当，受到其他人基因组 DNA 的污染；②实验室处理检材过程中样本的交叉污染；③实验室先前 PCR 产物对样本的污染。

防止污染的方法：除遵循一般 PCR 防止污染的操作方法外，在现场提取检材时，不同地方、不同种类的检材应分袋包装。在处理检材时，先处理未知样本，再处理已知样本，或两者在不同房间处理。如先处理现场提取的检材，再处理嫌疑人的样本。毛发、骨骼等样本应尽量清洗干净，如有作者报道，对陈旧骨骼采用高压灭菌细砂纸磨去骨表面 0.5 mm 厚层，250 nm 紫外线照射 1 h，以清除外源性 DNA 污染。一定要在操作过程中设置没有 DNA 模板的阴性对照，进行污染监控。

(2)异质性　一个个体存在一种以上的 mtDNA 序列称为异质性(heteroplasmy)[即在人类不同的组织或细胞里，mtDNA 的序列，特别是 mtDNA D－环区的序列组成会有不同的类型]。异质性起先被认为仅发生于疾病状态，但从沙皇 Nicholas 的遗骸 mtDNA 分析中观察到异质现象，以及随后在正常人 mtDNA 的非编码区的许多位置都发现了异质性。目前已知，2 个或更多类型的 mtDNA 混合物可能存在一个个体中，即同一个体的不同组织，或同一组织的不同部位，甚至同一细胞的不同 mtDNA 拷贝都可能存在某些差异。一般而言，一个个体的 2 种 mtDNA 序列仅会有 1 个碱基的不同。

异质性表现的方式有：①一种组织有一种类型以上的 mtDNA 序列；②一种组织含有一种类型 mtDNA，另一种组织含有另一种类型 mtDNA；③一种组织是异质的，而另一种组织不是异质的，即含有

一种类型mtDNA。

线粒体DNA异质性又分长度异质性(length - based heteroplasmy)和序列异质性(sequence - based heteroplasmy)。长度异质性见于2个高度可变区HV1和HV2,多表现为多聚胞嘧啶区(C - stretches)碱基数目的变异。这种变异在世界上主要的种族人群中经常可见,因此它的个体分辨力不高。序列异质性常表现为2种不同的mtDNA序列,仅在一个特定位置的核苷酸不同。现在尚未统计出在上述2个高变区中发现的每一种核苷酸异质性类型的比例,但其最常见的类型是在位置16 093 nt和16 129 nt的异质性,分别是T/C,G/A异质性。

mtDNA的异质性产生的原因目前尚无定论。Groover JC(1999年)等考虑到mtDNA较染色体DNA有更快的进化速度(有报道说是染色体的5~10倍),其复制的错误率高于染色体。在能量代谢特别旺盛的一些组织,如肌肉组织,这种现象会更加明显。这是由于mtDNA是在细胞质内自行复制,因而每个细胞内mtDNA的拷贝数很多。同时mtDNA的DNA聚合酶没有3′——→5′的外切酶活性,没有校正功能,因而其复制的错误率较高。还有认为异质性产生于碱基的替代事件(按经验报道为每33代或33次减数分裂就可以有一次核苷酸替换)。

关于mtDNA异质性的遗传,目前认为,人体所有细胞(包括生殖细胞)内,均含有200~1 000个拷贝的mtDNA。如果卵母细胞在发育成熟的过程中,将其mtDNA毫无保留地传给卵子,那么其后代的mtDNA类型将会是多得难于控制。但是,事实上,人类各群体中存在的mtDNA类型并不是变化莫测的,这是因为机体有一定的机制来控制mtDNA的变异在世代间的传递水平,这就是所谓的"瓶颈理论"(bottleneck theory)。这种理论认为在卵子发生的某个阶段(在小鼠为原始卵母细胞阶段),每一个生殖细胞的mtDNA拷贝数减至相当少的数量(有估计在2~200拷贝之间),这就是所谓的"瓶颈"。这种通过瓶颈传递下去的mtDNA的亚群(subset)远较母代所具有的亚群总数少,这些少数的亚群就成为后代mtDNA类型的基础。后代中可能含有同一类型的mtDNA,也可能含有几个类型mtDNA的混合物。此外,这种传递后的混合物还表现为不同后代的各个类型mtDNA亚群之间的比例不同。还有,发生在胚胎卵裂期晚期的"瓶颈效应"。在受精卵分化成不同组织时,由于不同的卵裂细胞携带不同数量和种类的mtDNA,发育成不同组织所含的mtDNA的种类也会不同,造成组织间的mtDNA异质性。

异质性的存在,对依靠mtDNA序列分析进行个人认定时,会引发一些不确定的结论。有作者报道,同一个体不同的组织、不同的年龄异质性发生率不同,认为肌肉组织发生率最高,并且认为随着年龄的增大,异质性发生率增高。另有作者报道,同一个体不同的组织异质性水平变异范围很大,且对异质性遗传研究发现,同一母系不同个体如同胞、上代与下代之间异质性水平变异很大。因此,mtDNA序列分析用于法医检案之前,有必要对异质性的现象及其规律进行深入研究,并依此制订在个体识别或亲缘关系鉴定时可以使用的判断标准。大量的研究证明异质性的发生率比原来的系统发生研究得出的推论更高,所有人群中都有个体存在着异质性,只是其程度一般都在法医mtDNA检测水平的极限以下。换一句话说,有许多异质性的现象用当前一般的检验方法是发现不了的。因此,目前这种检测不到的异质性一般不会造成解释结果混乱的现象。

根据mtDNA序列有下列突出特点:①其突变率较核DNA序列高,有些区域甚至高出6~17倍;②几乎所有个体的mtDNA都存在有不同程度的异质性(如前所述)。尽管这种异质性通常表现为1个个体中存在的2种mtDNA型之间只有1个碱基的变异,但是也可见到少数个体有2个或更多碱基的变异。因此国际法庭遗传学会DNA委员会(DNA Commission of International Society for Forensic Genetics)对将mtDNA测序结果作为法庭证据时提出了下列注意事项。

(1)实验必须采取足够手段防污染。测序实验必须设阴性(无模板DNA的)对照。

(2)为了追踪可能的污染源,所有参与mtDNA序列分析的人员都要预先作其本人的mtDNA序列测定,并将其资料存档。

(3)在确定mtDNA序列时必须重复2次分析,结果一致。同时必须轻重链都测,且2个方向的序列

相符。

(4)解释 mtDNA 序列结果时,要与参照(Anderson)序列比对。若 2 个检测样本的序列明显不同,则可排除样本是来自同一个体。

如果 2 个样本的序列相同,则表示不能排除他们来自同一个体;若这 2 个样本又有相同的异质性,则增加了他们是来自同一个体的证据的分量。

若 2 个样本的序列相同,但其中一个样本中观察到异质性,另一份样本中没有,则不能排除他们有共同的母系。

如果 2 份样本间只有 1 个核苷酸的差异,各自又没有异质性的证据,应定为"不能下结论"。

2 份样本间,不同的核苷酸数超过 1 个时,则倾向于排除其有共同母系。然而,尚需要考虑检测样本的组织来源,如取自同一个体的血液与毛发,这 2 种组织间 mtDNA 序列变异的机会大于 2 份血样本之间。因而,有时同是血液样本之间 1 个核苷酸的差异可以作为不是来自同一个体或有共同母系的证据。

(5)尽管有关 mtDNA 的突变率的知识不多,难以做出准确的估计,但在进行结果解释时仍需要考虑突变的可能性。一般而言,样本间序列差异的数量越大,来自同一个体或具有共同母系的机会就越小。

当 2 个样本的 mtDNA 分析结果不能排除来自同一个体时,需要给出作为证据的几率的信息。这时可以在相关的数据库中找到该特殊序列(或单位型)频率,在考虑相关群体中可能存在的亚群结构(subpopulation)的基础上经过抽样误差的校正,再行计算检测出的该特殊序列(单倍型)是数据库相关资料的倍数来进行解释。通常用似然率来表示。

5. 展望　mtDNA 由于自身的特点,在法医学这个领域已占有一席之地。现在,全世界已有 50 多个实验室将 mtDNA 序列分析用于检案。美国 FBI 实验室从 1996 年起开始运用 mtDNA 序列分析检案,至今已检案 70 例。另外,mtDNA 数据库增加很快,据估计 mtDNA 序列数量超过 5 000 个,今后一二年内将翻一番。但 mtDNA 序列分析在法医领域的应用仍处于早期阶段。在美国没有州级实验室使用该技术。国内仅有辽宁刑事科学技术研究所、公安部物证鉴定中心和中山医科大学法医鉴定中心等运用该技术检案。为了更好地利用 mtDNA 多态性服务于法医物证检验,需在下列方面做出努力:①mtDNA 数据库的建立,只有建立包含各种群体、各种 mtDNA 序列以及群体中异质性情况的完整的数据库,人们才能对 mtDNA 的群体遗传规律了解更透彻,制定统一的结果判断标准,使 mtDNA 序列分析成为有价值的个体识别手段;②虽然 mtDNA 母系遗传的特性已普遍为人们所接受,但从 mtDNA 序列水平,对不同的母系 5 代或 5 代以上母系遗传的验证是必需的;③增加 mtDNA 序列分析的个体识别率,目前,mtDNA 序列分析主要分析 HV1 和 HV2 区,在大多数案例,这 2 个区的序列变异足以区别不同母系的个体,但也存在一种情况,即某种 mtDNA 类型在人群中常见,限制了 mtDNA 序列分析的个体识别率;有学者证明 HV1 和 HV2 区以外的 mtDNA 的控制区也有显著的序列变异,进而提出分析 mtDNA 的整个控制区以提高个体识别率;④mtDNA 异质性的研究;⑤法医检案要求简便、快速、价廉,这就需要对 mtDNA 分析技术,包括 DNA 抽提、PCR 扩增及测序过程的自动化,DNA 序列分析软件的高智能化等。我们相信随着各项技术和设备的不断改善,不久的将来测序速度可望达到 3 000 bp/h 以上,使 mtDNA 序列分析,甚至核 DNA 序列分析成为法医实验室常规手段。

(二)在其他领域的应用

mtDNA 多态性除了在法医学上应用外,还广泛应用于人类疾病的研究和人类学研究。

1. 人类疾病的研究　1988 年,Holt 和 Wallace 分别在线粒体脑病和 Leber 遗传性视神经病(LHON)患者的细胞中发现了 mtDNA 突变,从而开辟了 mtDNA 突变与人类疾病关系的研究。目前已知许多人类严重的疾病是由于 mtDNA 分子基因编码区突变引起。从分子遗传学角度对线粒体疾病进行研究,可以揭示线粒体疾病的发生、发展及其遗传规律,从而为线粒体疾病的诊断、治疗及其预防提供科学依据。

mtDNA 序列在人群中具有高度的多态性，且在 mtDNA 序列所有基因编码区都发现有多态性位点，这就给 mtDNA 序列的碱基突变是致病性突变还是多态性变异的判断造成困难。因此，在研究 mtDNA 突变与人类疾病关系时，了解群体中 mtDNA 序列的遗传多态性是非常重要的。

2. 人类学研究　mtDNA 序列分析为分子人类学开辟了一个新的领域。人类学家利用 mtDNA 研究人群遗传变异的程度，现代人群的起源、迁移及群体之间的关系。mtDNA 作为揭示人类种系发展历史的工具原因有二：①mtDNA 为母系遗传，其不同种类演化树被视为系谱，反映了人类母系的发展历史；②mtDNA 进化快，不发生重组，群体间甚至亲缘关系很近的群体都存在许多变异。Cann RL 等（1987 年）通过世界范围的调查提出假说，认为现代人类 mtDNA 按母系可追踪到大约 200 000 年前非洲群体的祖先 mtDNA，现代人类起源于非洲。

第六节　单核苷酸多态性（SNPs）及其检测技术

人类在不断利用自然，改造自然的同时，也在对自身生命密码进行着不断的解读。随着人类基因组研究的深入，一代又一代遗传标记相继开发，法医物证检验技术也掀起一次又一次的革命。1997 年，SNPs 标记策略提出，在整个生物学界引起了基因多态性研究的新的热潮，为法医物证检验的发展提供了新的契机，成为继 RFLP、VNTR（主要是 STR）之后的第三代 DNA 遗传标记。

一、概述

（一）SNPs 的概念及分类

单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms，SNPs 读作［snipis］）是指基因组内特定核苷酸位置上存在着 2 种不同的碱基，其中最少的一种在群体中的频率不少于 1%（图 15－9）。

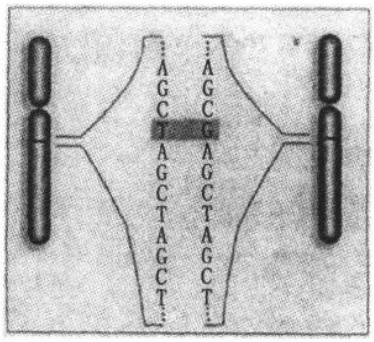


图 15－9　SNPs 示意图

（二）SNPs 的来源

SNPs 主要是基因组水平上不同个体之间在染色体线性 DNA 序列相同位置的某个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性，在该段序列上只涉及单个碱基的变异。理论上某一特定核苷酸位置可有 4 种碱基（A、T、C、G）可变异，因此 SNPs 既可能是二等位多态性，也可能是 3 个或 4 个等位多态性，但实际上，后两者非常少见，几乎可以忽略。通常所说的 SNPs 只表现出双等位基因（biallelic），即二态性（dimorphism）。

SNPs 的单碱基变异既可由单个碱基的转换（C—T，G—A）或颠换（C—A，G—T，C—G，A—T）所致，也可由单碱基的插入或缺失引起。但通常所说的 SNPs 不包括后 2 种情况。转换的发生率约占2/3，其中 25% 的 SNPs 发生于 CpG 位点，这可能是因为 CpG 二核苷酸上的胞嘧啶残基大多数呈甲基化状态，可自发地脱去氨基而形成胸腺嘧啶，因而发生 C—T 转换。

（三）SNPs 的含量及分布

与 RFLP、STR 相比，SNPs 更广泛地存在于基因组中。如果按碱基变异频率为 0.5‰～10‰来估计的话，人类基因组中每千个核苷酸就有一个以上的 SNPs，因此整个基因组中共有 300 万个以上的 SNPs，是人类可遗传的变异中最常见的一种，占所有已知 DNA 多态性的 90% 以上。

SNPs 在基因组中分布不均匀，不同区域之间 SNPs 分布的数量可相差 100 倍以上。例如，在有些区域单核苷酸变异不足 0.1%，而一些 HLA 的非编码区单核苷酸变异达 5%～10%。

(四)cSNPs 的概念及分类

根据 SNPs 在单个基因或整个基因组中的分布情况可将其分为 2 种形式:一是遍布于基因组非编码区内的大量碱基变异,二为基因编码区内的突变,又称为 cSNPs(coding SNPs)。从对生物的遗传性状的影响上来看,cSNPs 又可分为 2 种:一种是同义 cSNPs(synonymous cSNPs),即 SNPs 所致的编码序列的差异不影响其所编码的蛋白质的氨基酸序列;另一种是非同义 cSNPs(non synonymous cSNPs),指碱基序列的改变可使翻译的蛋白质序列发生改变,从而影响该蛋白质的功能。这种改变常是导致生物性状改变的直接原因。cSNPs 中约有一半为非同义 cSNPs。

总的来说,由于在外显子内的碱基变异率较低(仅及周围序列的 1/5),因此位于编码区内的 cSNPs 比较少,总数仅约为 20 万,远少于非编码区 SNPs 数目。但因 cSNPs 在相关 DNA 片段的功能或与疾病相关性方面所具的重要意义,使之成为全世界许多大公司和科研部门首先关注的目标。

(五)SNPs 的特点

同 RFLP、STR 这两代 DNA 遗传标记相比,SNPs 具有以下特点。

第一,SNPs 位点丰富,分布密度高。虽然 SNPs 单位点可以提供的信息相对较少,但分布的高密度弥补了单位点信息量的不足。据研究,3~4 个相邻的 SNPs 位点构成的单倍型可达 8~16 种,相当于一个 STR 位点的多态性,1 000 个 SNPs 与 400 个 STR 扫描得出的连锁信息量几乎等同。

第二,SNPs 具遗传稳定性。SNPs 被认为是一种能稳定遗传的早期突变,与 STR 等多态标记相比,SNPs 具有更高的遗传稳定性。这对于法医亲子鉴定来说更有意义。

第三,SNPs 检测技术可自动化。SNPs 标记作为双等位基因,结果可表现为简单的"+/-"或"有/无"形式,无须像 RFLP 或 STR 检测那样测量片段长度,这使 SNPs 的检测方法易于实现自动化。

第四,部分 cSNPs 可能会直接影响基因表达水平或产物蛋白质的结构,其本身可能就是某些遗传疾病发病机制中的肇事位点,研究价值很大。

二、SNPs 检测方法

SNPs 表现为单个碱基的变异,故理论上任何可以检测点突变的技术均可用于检出 SNPs,如:限制性酶切片段长度多态性(RFLP)、单链构象多态性(SSCP)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)等。但这些技术均依赖传统的电泳方式,难以进行大规模、自动化的检测。近几年来,多种新方法层出不穷。本文仅简要介绍几种较有前景的 SNPs 高通量检测技术。

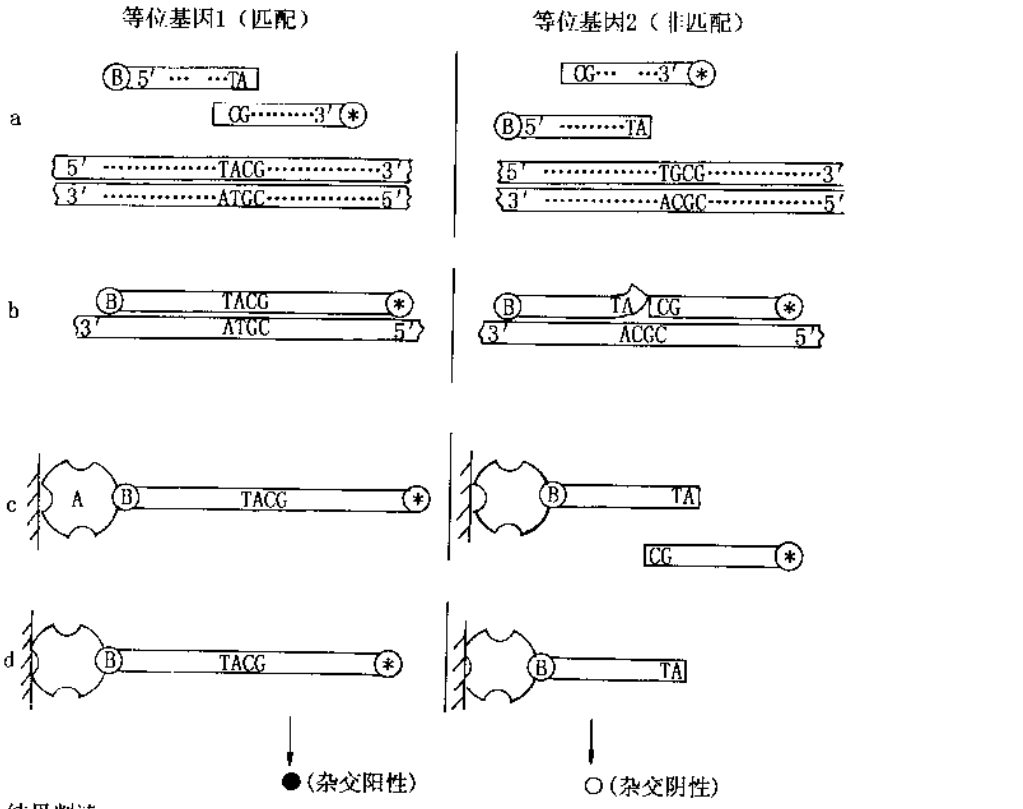
(一)通过杂交方式检测

1. 列阵杂交分析(array hybridization assays)(又称 DNA 芯片,DNA chip) DNA 芯片(DNA chip),也称生物芯片(biochip)(详见第 20 章),其大小与计算机上的 CPU 芯片相似,约为 $1cm^2$,以玻璃、硅、聚丙烯等作为载体,芯片上有序地、高密度地铺了一层肉眼看不到的 DNA 纤维"地毯",即具有特定碱基序列的探针。待测样本经提取后,被切成长短不一的片段,用荧光化学物质标记后,注射到嵌有芯片的载片上。DNA 和探针杂交的数量与荧光强度相关,因此可通过激光扫描,根据荧光强弱来获取样品分子的数量和序列信息。

DNA 芯片技术备受世人的瞩目,如 Research Genetics 公司新近开发了 1 个集成有 1 500 个 SNPs 的 DNA 芯片,它涵盖了人类基因组全部 46 条染色体,所提供的信息量至少等于或优于目前常用的 300~400 个 STR 标记的图谱。但是,目前在样品的制备、探针合成与固定、分子的标记、信号的读取与分析等各个环节仍然存在着许多问题,加之基因芯片技术对特殊仪器的依赖,成本昂贵,技术复杂,其实际应用还受很多限制。

有学者认为法医 DNA 检验的未来有赖于 DNA 芯片技术的应用,并有希望借此技术制成小型化的现场包,真正实现"可携带的实验室"。

2. 寡核苷酸连接检测(oligonucleotide ligation assay,OLA)　该方法的原理是:2 个寡核苷酸探针(Oligoes,一般为 20 个碱基长,即 5′探针及 3′探针),与同一条模板 DNA 链退火结合。其中,5′探针的 3′端紧靠 3′探针的 5′端,模板中可能存在的 SNPs 核苷酸刚好位于 5′探针的 3′端。只有当 5′探针的 3′末端碱基与模板 DNA 互补时,DNA 连接酶才能连接这 2 个探针。实验体系中可针对每一 SNPs 位点的等位基因设计一对探针,并通过多种方式显示其是否发生了连接反应。如图 15－10 所示,在 5′探针的 5′端连上生物素,在 3′探针的 3′端连上地高辛,经过杂交和连接反应之后,将反应产物加入到预先用链霉亲和素包被的固相载体中,有生物素的一端即与之特异性结合,然后用酶联的抗地高辛抗体来检测链霉亲和素捕获产物是否含地高辛,从而可判断是否发生了连接反应。通过对 SNPs 的每一种等位基因进行一个独立的连接反应,根据反应的阳性或阴性即可识别 DNA 模板序列中的多态性,这种分析可产生大量能直接被计算机读取、解释的数据,整个分析可在 96 孔微量滴定板上进行。



结果判读:

等位基因1探针	等位基因2探针	分型
●	○	等位基因1纯合子
○	●	等位基因2纯合子
●	●	等位基因1、2杂合子
○	○	无反应

图 15－10　PCR－OLA 法检测 SNPs 位点示意图

A:链霉亲和素包被的固相载体;B:检测探针用生物素标记;*:示踪探针用地高辛标记

Delahunty C 等采用 PCR/OLA 方法,建立了使用 20 个 SNPs 进行基因分型的方法,并应用于法医学

个体识别和亲权鉴定。

3. 肽核酸(peptide nucleic acid,PNA)探针技术　PNA是丹麦科学家 Nielsen PE 于 1991 年首先合成的一种 DNA 类似物(图 15－11),其中由带电中性的 2－氨乙基甘氨酸组成的多聚酰胺键取代了核酸双链中的磷酸－戊糖骨架,每个 2－氨乙基甘氨酸单位也可通过甲叉酰胺基与碱基连接,并与靶核酸碱基配对杂交。由于不像 DNA 那样有带负电的磷酸基团,因而杂交时不需阳离子以抵消 DNA 链之间的静电排斥,使 PNA 与 DNA 结合的特异性和亲和力比 DNA/DNA 更高,形成的杂合体比相应的 DNA/DNA 双螺旋更稳定,这就使 PNA 寡聚物适于作等位基因特异的杂交探针。

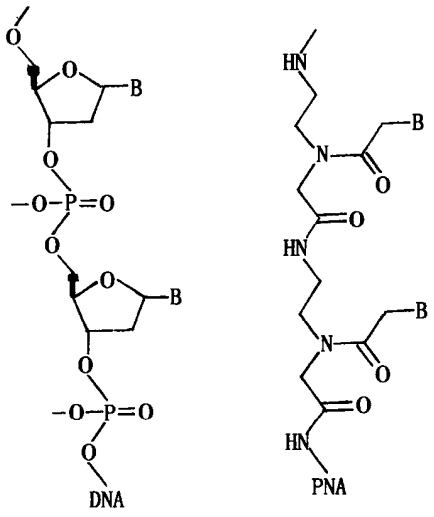


图 15－11　DNA 和 RNA 结构比较

B 代表 A、C、T、G 4 种碱基

用 PNA－DNA 杂交法来筛查 SNPs 时,可有多种检测方式,比如用 MALDI－TOF 质谱技术(详见后述)进行分析,其过程可简述为:首先将生物素标记的单链 PCR 产物固定到链霉亲和素(streptavidin)包被的磁珠上,然后加入 2 种 PNA 杂交探针(每种分别与一种 SNPs 等位基因配对)。PNA 与 DNA 退火后,冲洗磁珠,仅有与单链 DNA 分子完全配对的 PNA 探针才保留在磁珠上。将这些磁珠溶液点到 MALDI－TOF 质谱仪探头上,再加入酸性介质晶体使 PNA 解吸附、离子化,最后检测其质量,每一 PNA 探针将对应 PCR 产物中的一个特异的 SNPs 等位基因。

4. Taqman 探针技术　Taqaan 系统巧妙地利用 TaqDNA 聚合酶的 5′→3′外切酶活性进行特定 PCR 产物的实时定量检测。实验体系中除模板 DNA 和特异性引物外,尚有一种特殊的探针(图 15－12)。此探针较短,其序列包含待测 DNA 片段可能有的 SNPs 位点,其 5′端标有不同颜色荧光的报告基团(reporter),3′端有淬灭基团(quencher)。在完整的探针内,两基团因发生荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer,FRET),使报告荧光淬灭。在 PCR 反应过程中,该探针能与待测 DNA 模板中含有 SNP 位点的一段序列互补杂交,当 TaqDNA 聚合酶使引物延伸到探针 5′端时,其 5′→3′外切酶活性会切割探针并使报告基团游离,不再受淬灭基团作用,在激光激发后发出荧光。反之,若探针与待测模板不互补,TaqDNA 聚合酶的 5′→3′外切作用不能游离报告基团,激光无法使之发出荧光。TaqMan 技术实现了 PCR 的实时定量检测,并且因整个反应过程一次加样,在密封体系中进行,故将 PCR 污染的风险降至最低。

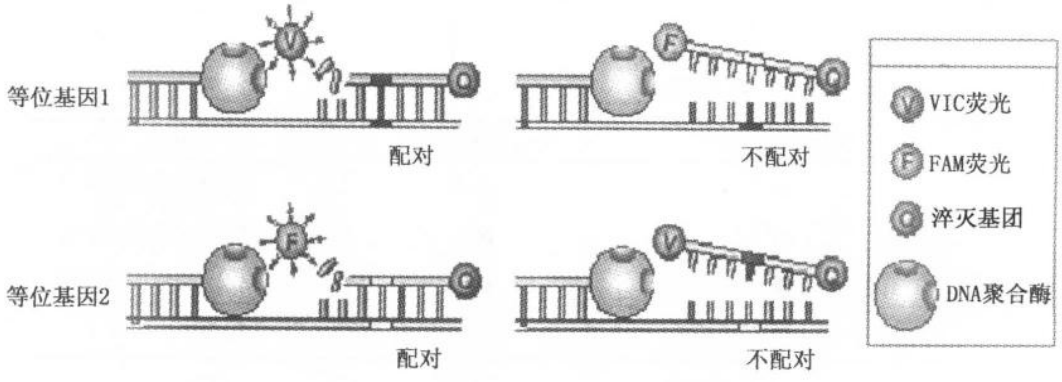


图 15－12　TaqMan 探针 SNPs 检测工作原理

V、F 为分别标记了 VIC、FAM 荧光的报告基团,Q 为淬灭基团。左图为分别与 SNPs 2 种等位基因杂交互补的情况,右图为杂交不互补的情况

5. 分子信标技术　分子信标(molecular beacons)技术也是以荧光淬灭原理为基础。它有供体和受体荧光染料,分别位于两翼有互补序列的探针两端,当未与靶序列杂交时,探针形成一个"发夹"结构,使供体－受体染料相互靠近而使荧光淬灭。反之,探针与靶序列杂交时,染料分离,荧光信号可增强至900倍。探针的发夹结构设计使具有错配的杂交更加不稳定,增加了对 SNPs 的选择性。该法可以同时使用4个或更多不同标记的探针。

6. 等温滚环扩增技术(isothermal rolling circle amplification, RCA)　RCA 技术是以 PCR 技术为基础,结合杂交、连接酶反应等技术发展起来的一种新型 DNA 特异性检测技术,其原理可简述如下:设计1个80～90个碱基的探针(图15－13),探针的两端各有20个碱基,中间由40～50个碱基的主链序列连接。该探针的5′端磷酸化,其20个碱基的序列与 SNPs 的5′端序列完全互补;探针的3′端20个碱基的序列与紧靠 SNPs 位点的3′端区的序列互补。如果探针3′端和5′端各20个碱基的序列完全与靶 DNA 序列互补杂交,在连接酶的作用下,探针将环化,成为挂锁探针(padlock probe)(图15－16)。探针的主链序列,含有与2个 RCA 引物(引物1和2)结合的区域。其中,引物1与探针的主链区互补结合后,在一种缺乏核酸外切酶活性的 DNA 聚合酶的作用下进行延伸反应。连接以后的探针呈环状,在等温(60～70 ℃)条件下延伸不断进行,结果就产生一条由多个与探针序列互补的拷贝串联形成的单链,每个拷贝中均含有一段引物2的结合序列。然后,众多引物2以这条长链为模板,结合到链上每个拷贝的相应位置,在 DNA 聚合酶的作用下向前延伸。当延伸至前方的引物2时,可使前方的双链解链,形成"分支",这就使前方分支链上暴露出引物1的识别结合区。每一个引物2不断向前延伸的结果是:①使前方的引物2形成的双链不断解链成分支,最终在模板链的末端使前方的分支链脱落;②自身又被后方引物2形成的延伸链置换掉。越靠后的引物2形成的分支链越长。这样,大量的引物2在多位点的延伸形成"超分支"(hyperbranched RCA, HRCA)链置换。脱落的各条分支链实际上就是含有不同拷贝数目的探针序列。这样,探针 DNA 分子按几何级数扩增(图15－14),可达10^9数量级。但若没有环化的探针形成,扩增就无法实现。

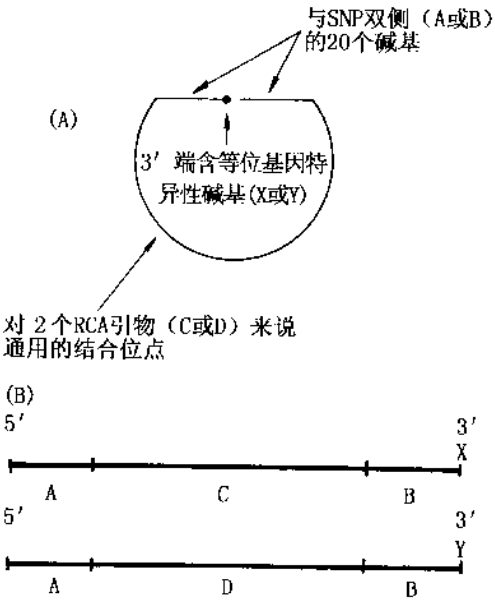


图15－13　RCA 技术探针设计

(摘自安发玛西亚生物技术公司《基因园》2001年3月第三期)

(A)等位基因特异性开环探针的设计;(B)一对 SNP 特异性寡核苷酸探针的序列组成。图中 A:5′－SNP 特异性序列;B:3′－SNP 特异性序列;C 或 D＝主链序列。

如图所示在2个探针之间此序列是不同的,而在其3′－端含等位基因特异性碱基;X 或 Y＝不同的等位基因特异性3′碱基

如在引物2上结合前述"分子信标"技术,可使扩增产物无须进行纯化或分离即可进行荧光检测,使 RCA 检测更易实现自动化。美国安发玛西亚生物技术公司将 RCA 测定技术与自动液相操作(robotic liquid handling)和自动板块操作技术(automated plate manipulation)融为一体,制备成完整的 SNPs 分析系统,可实现对 SNPs 的高通量检测,最快每天可进行5 000次 SNPs 分析。

7. 寡核苷酸探针侵袭切割技术(invasive cleavage of oligonucleotide probes)　该技术由美国 Third Wave Technology 公司发明,无须进行 PCR,具有无污染、特异性与灵敏度高、操作简便等优点。其反应体系主要包括4种成分:侵袭型探针(invader oligo)、等位基因特异性探针(allelic specific oligo)(包括上游的5′游离臂及下游的等位基因探针)、靶 DNA 序列和摆动核酸内切酶(flap endonuclease)(如图15－15a所示)。其中:①侵袭性探针除3′末端的一个核苷酸(N)外,其他碱基都与靶 DNA 序列互补;②等

位基因探针的5′游离臂不与靶DNA序列互补，而其余部分与靶DNA互补；③摆动核酸内切酶能特异性识别如图15－15a实线框中所示的碱基配对的三联体重叠结构，并切割等位基因特异性探针。

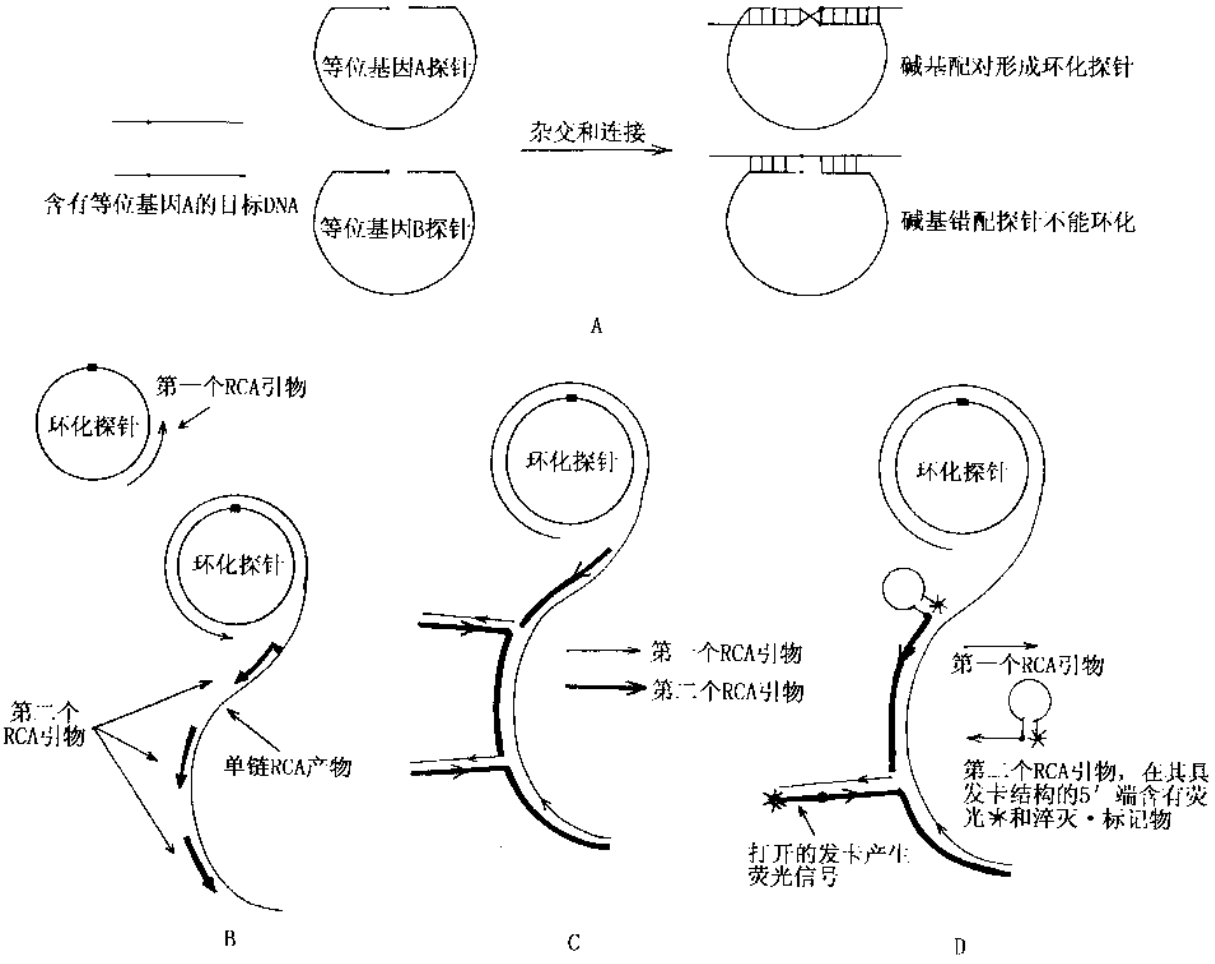


图15－14　RCA技术过程示意图

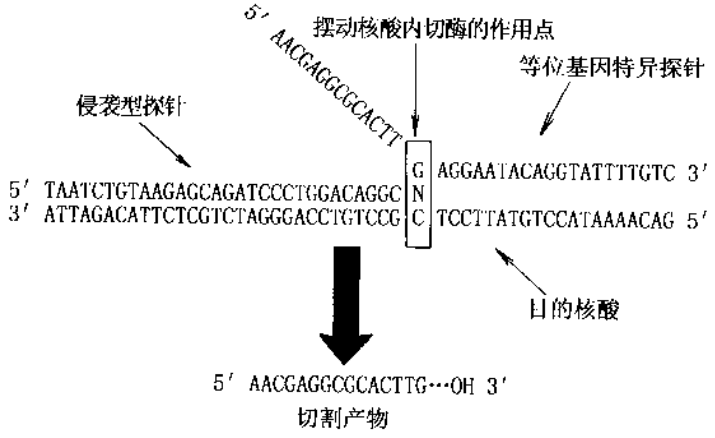


图15－15a　侵袭切割反应体系

在反应中，侵袭型探针和等位基因探针分别与靶 DNA 发生互补杂交，但等位基因探针上游 5′端的部分碱基不与靶 DNA 互补配对，呈游离状态，称 5′游离臂。在杂交过程中，上游的侵袭型探针的 3′末端的一个核苷酸插入由下游的等位基因探针与靶 DNA 互补配对形成的双链核酸中，从而在该位置上形成一个重叠结构（overlap），如图 15－15a 中实线框中所示。重叠结构中的等位基因探针与靶 DNA 是互补配对的（如图 15－15a 中的 G 与 C），侵袭性探针的 3′端插入其中。这一三联体重叠结构可被摆动核酸内切酶识别并切割，切割位点在等位基因探针下游 5′端的第 1、2 两个配对碱基之间，得到的切割产物为等位基因特异性探针的 5′游离臂再加上第一个配对碱基。若等位基因探针于靶 DNA 不完全配对，则不会发生切割反应，如图 15－15b－B。可有多种方法检测切割产物，比如前面所述的荧光共振能量转移（FRET）检测法。

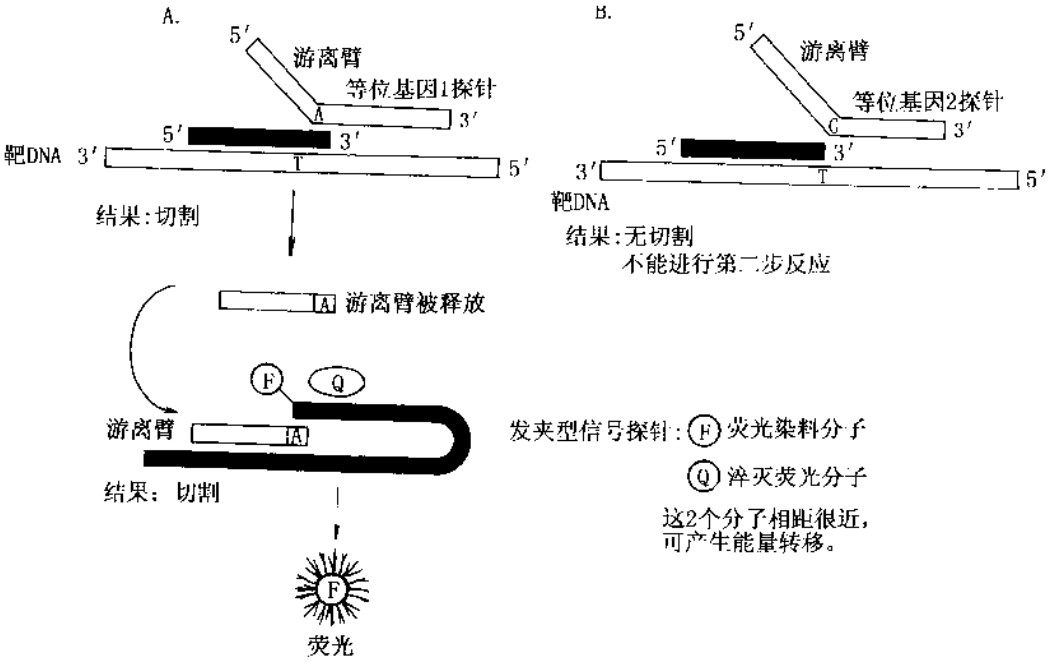


图 15－15b　寡核苷酸探针侵袭切割反应原理示意图

此法用于 SNPs 检测时，可将等位基因探针下游部分的 5′端第一个碱基设计成与 SNPs 位置互补的碱基（如图 15－15a 所示），从而可对 SNPs 进行分型。由于该技术扩增的是被切割的等位基因探针而不是靶 DNA，从而减少了由污染引起的假阳性。本方法快速、准确，具有很好的应用前景。2000 年 2 月，PE 公司为了拥有侵袭检测技术，以 3.3 亿美元收购了 Third Wave Technology 公司，显示了该技术的巨大潜力。

8. 离子对反向高效液相色谱法（ion－pair reversed－phase high performance liquid chromatography）DNA 的变性与复性对温度具有依赖性。变异型和野生型的 PCR 产物在一定温度下可以形成同源双链，也可以形成异源双链。异源双链与同源双链的 Tm 值的差异使色谱固定相保留它们的能力有所不同，根据这种差异可以对 SNPs 进行分型。该方法具有半自动化、快速、检出率高、适合大片段等优点，已有采用该原理的专利仪器，称为 WANE DNA 片段分析系统。国内学者孟海英等采用惠普公司的高效液相色谱仪进行 SNPs 位点的分析也获得了成功。

（二）通过测序技术检测

1. DNA 直接测序　采用传统的 Sanger 双脱氧末端终止法及 Maxam－Gilbert 的化学法，可以检测 SNPs 位点，但此法费时费力。

2. 微测序技术(minisequencing,又称引物延伸技术,primer extension) 在做 PCR 时,根据 SNPs 多态碱基的序列来设计引物,使其 3′端紧靠多态碱基(但不包括多态碱基),同时加入 ddNTP,让 DNA 只进行一个碱基的延伸,再通过以下方法分析延伸碱基的类型。

(1)利用基质辅助激光解离/吸附飞行时间质谱法(MALDI - TOF - MS, Matrix - assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry) MALDI - TOF 质谱是新发展起来的技术。将核酸物质加入介质溶液中并加以干燥,核酸分子将嵌入到介质晶体中。将之放入质谱仪的真空小室,用瞬时(纳秒)强激光激发,晶体中的核酸分子就会解吸附,变成气相的离子态,在强电场的真空管中快速飞行到达极性相反的检测器。离子质量越小,带的负电荷越多,到达检测器越快,据此可检测出不同碱基组成的核酸分子(图 15 - 16)。

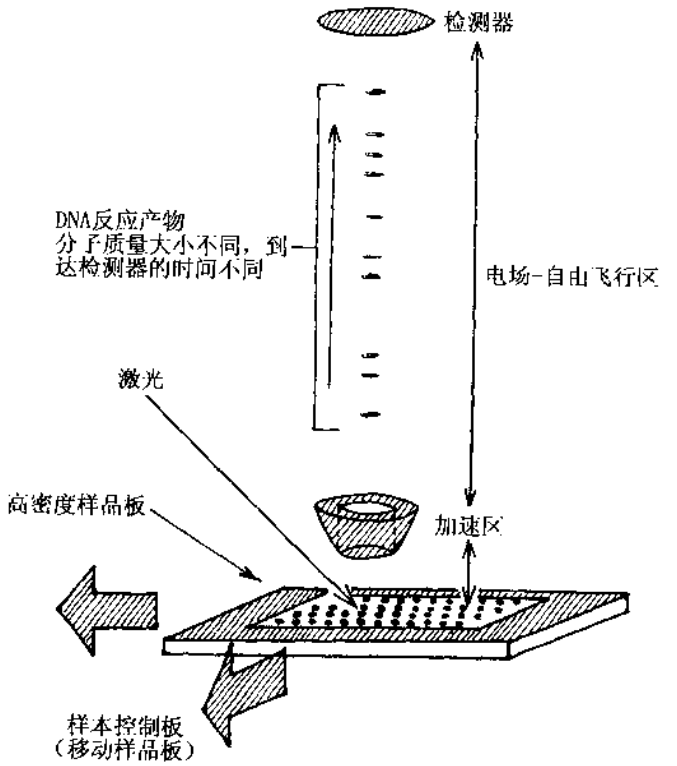


图 15 - 16 MALDI - TOF MS 机制简图

MALDI - TOF 质谱分析核酸具有下列优势:①快速:核酸分子的离子化及检测仅在几毫秒内完成;②结果精确:质谱对核酸分子的分离仅与其自身的质量/电荷(mass - to - charge ratio, m/z)有关,而传统的电泳或杂交方法易受核酸二级结构的影响;③自动化操作:从样品制备到数据的采集加工都可自动化完成。已有报道,采用微测序法可以对 1 个 DNA 片段上存在的 12 个 SNPs 位点进行复合分型。

(2)利用荧光标记 ddNTP 及电泳分析 用 DNA 聚合酶合成 DNA 时,采用 SNPs 位点特异性引物,在反应体系中只加入分别标有不同颜色荧光的 ddNTP,引物延伸一个碱基(即 SNPs 多态性位点处)后终止。通过激光凝胶电泳可观察到各色荧光。根据上述原理,PE 公司推出一种 ddNTP Primer Extension Kit。应用毛细管电泳技术设计的新一代测序仪,如 PE 公司 ABI3700,采用激光诱发的荧光检测系统,具有 96 道毛细管柱,可实现对 SNPs 的自动化、高通量检测。

3. 杂交测序(sequencing by hybridization, SBH) 杂交测序的基本原理是:任何线状的单链 DNA 或 RNA 序列均可被分解为一系列碱基数固定的寡核苷酸,又称亚序列(subsequence),如 TTAGCTCATATC

可分解为 5 个一组的 8 聚亚序列(也可分解为 7 聚、9 聚亚序列等)。如下所示:

TTAGCTCATATG
　　CTCATATG
　　GCTCATAT
　　AGCTCATA
　　TAGCTCAT
　　TTAGCTCA

假如把这些 8 聚亚序列分别作为探针与靶序列杂交并全部呈阳性,就可以据此重建出靶序列组成。此即为 SBH。

将 SBH 原理用于 DNA 芯片技术中(详见第 20 章),可自动、快速地检测数千条 DNA 序列,而且获得的信息特异、稳定。

4. 焦磷酸测序(pyrosequencing)　焦磷酸测序是近年发展起来的一种 DNA 合成测序技术。它利用 4 种酶混合物,将核苷酸掺入时释放的焦磷酸(PPi)合成 ATP 再进行荧光素检测。反应混合物包括单链 DNA、一条引物、DTT(二硫苏糖醇)、腺苷酰硫酸(adenosine phosphosulfate)、荧光素和 4 种酶,即 DNA 聚合酶、ATP 硫酰酶(ATP sulfuryease)、荧光素酶(luciferase)和腺苷三磷酸双磷酸酶(apyrase)。它们的空间位置关系如图 15－17a 所示。4 种单核苷酸按一定的顺序循环加入反应(每次反应只加入一种单核苷酸),例如:按 C→G→A→T→C→G→A→T 的顺序。如果加入的单核苷酸碱基与模板 DNA 配对(图 15－17b),DNA 聚合酶将核苷酸掺入,继之 PPi 被释放,腺苷酰硫酸上的硫酸被 ATP 硫酰酶脱去,与 PPi 生成 ATP,在荧光素酶的作用下荧光素利用 ATP 产生荧光,同时多余的单核苷酸将被腺苷三磷酸双磷酸酶降解。反之,如果加入的单核苷酸碱基与模板 DNA 不能形成配对,DNA 聚合酶就不会掺入,没有 PPi 的释放,也就不会产生可检测的荧光(图 15－17c)。

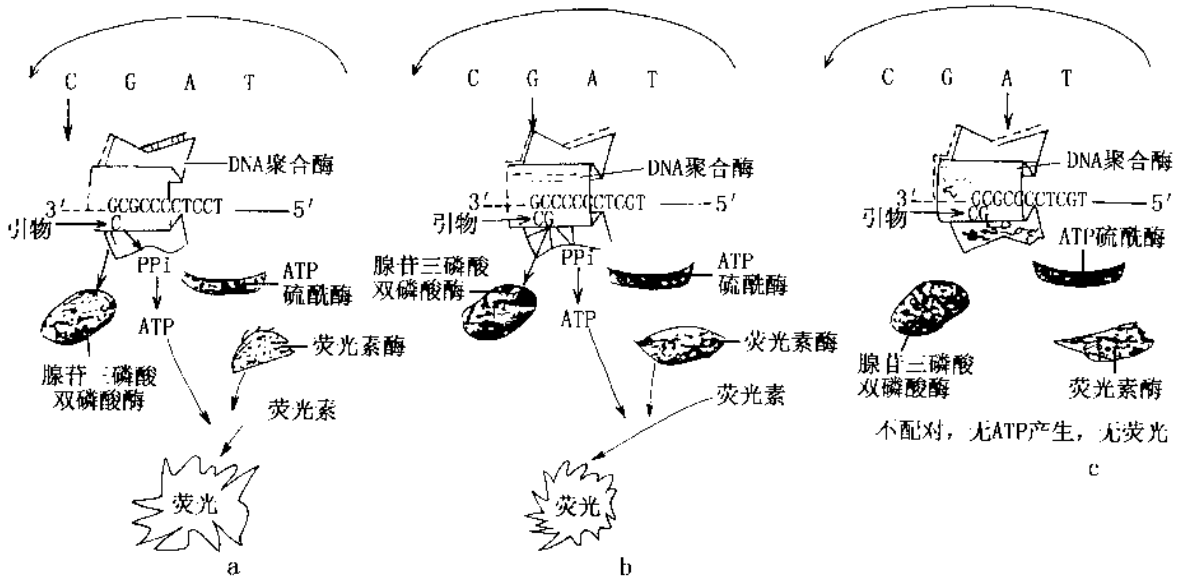


图 15－17　焦磷酸测序原理示意图

采用商品化的专门仪器(如:Pyrosequencing AB, Uppsala, Sweden)及相应的模式识别软件,单核苷酸配对后产生的荧光可转换为相应的波形图。每一个 SNPs 位点的 3 种基因型(2 种纯合子、1 种杂合

子)将表现为不同的模式。

该技术可以在5 min内同步对96个样品进行SNPs位点分型,具有很好的应用前景。

三、SNPs主要应用领域

(一)在医学遗传学上的应用

基因在决定个体的表型,即形态、代谢和免疫状态等方面起着决定性的作用。通过赋予个体对疾病的易感性或抵抗力,以及影响机体与环境因素的相互作用,基因也对大多数疾病的发生、发展起着重要作用,某些还起着决定性的作用。因此,人们希望能识别这些基因,以加深对疾病的认识,从而改进疾病的诊治和预防。

目前,确定疾病基因的研究策略主要是通过全基因组的扫描进行基因定位克隆。这种策略自1986年提出后即被成功地应用于人类基因的研究上,对寻找各种遗传病的致病基因起到了巨大的推动作用。到1997年,通过这种方法已确定了100多个以孟德尔方式遗传的疾病的致病基因。SNPs标记的出现,为解决多基因遗传病的发病机制找到了一条新的途径。

1. SNPs标记作连锁分析　SNPs可以用于疾病的连锁分析和未知致病基因的定位。SNPs数量大,分布广,在任何已知或未知致病基因附近都可能找到众多的SNPs,且分辨率更高,基因定位也更加准确。有作者计算,700~900个SNPs作的基因图与目前用于基因组扫描的300~400个微卫星位点作的基因图的分辨能力相当,但制作起来前者要容易得多。而如果采用1 500~3 000个SNP位点作扫描,其分辨能力明显优于目前使用的微卫星DNA扫描方法。并且由于SNPs标记分析易于自动化,使得分型工作可以快速地在大量样本中进行,大大提高了速度,降低了成本。

SNPs标记制作遗传图谱连锁研究主要从以下两方面进行:一方面与经典的STR分型相似,依靠参数分析和计算LOD值来衡量SNPs标记与某致病基因的连锁关系;二是与连锁不平衡策略相结合,利用非参数方法直接搜寻世代一致性(identical by descent,IBD)下公共的序列(即判断受累同胞对的标记等位基因是否同源,是否均来自同一亲代的同一染色体),或者与区域性表达图谱相结合直接对候选基因进行扫描分析从而迅速确定致病基因。

2. SNPs标记作全基因组或大范围基因组的关联分析　对一个较大群体的患者与非患者进行许多SNPs标记位点的检测分析后,若发现一个或几个SNPs及其频率在患者群体中明显超过非患者人群,即表明这些标记与该病关联。通过比较分析两者的单倍型及其频率和连锁不平衡的现象,进行关联分析,还可能将致病基因在基因组中定位,但要做到这一点,估计需要有3万~30万个SNPs。

目前有2种方法可用于全基因组的关联扫描分析。一种是直接检测常见的引起基因功能变异的SNPs位点,即功能性cSNPs,但这些位点相对较少。据估计,在人类编码区DNA序列的变异平均每个基因只有2~3个SNPs位点,只有少数基因SNPs位点出现的频率可以达到10%或更多(指以基因为单位计算)。目前能够得到全长序列的人类基因数不多,因此这一方法还不能广泛应用。

另一种方法是采用成套的分布于编码区或编码区之外的高密度的SNPs图谱,在患病个体和正常对照人群中进行对比研究,从而确定成套的SNPs位点所在的基因与该疾病的关联。

3. 多基因疾病相关基因的定位　现在认为许多遗传性疾病,特别是遗传相关性疾病都有多数的易感基因,由于涉及的基因较多,而且基因间的相互作用及环境因素在其中所起的作用尚未确定,因此在多基因疾病的相关基因的识别和定位方面取得的成绩仍十分有限。然而,如果采用高密度、高分辨率、能自动化操作、速度快的SNPs的基因图来进行全基因组或大范围的连锁分析或关联分析,则可能筛查到疾病的许多相关基因或易感基因。有作者声称已通过SNPs关联分析发现了2个前列腺癌相关基因。又有作者以SNPs为标记,用半参数法作连锁/连锁不平衡综合分析和模拟基因组扫描以定位某些性状的基因,并表明综合分析比单纯连锁分析或单纯连锁不平衡分析可以获得更好的结果。

(二)在群体遗传学上的应用

生物界的进化与进化过程中物种多态性的形成与基因组的突变密切相关,构建包括人类及生物进化中与人类具有较近亲缘关系的动物种类的整个基因组的SNPs图谱对于直接研究人类的起源具有极大的意义。通过对比人群之间的SNPs图谱可以对人类的发源、迁移等做出估计,从而理清人类进化过程中源与流的问题。

群体遗传学注重用基因间隔区和低重组区域的SNPs标记来研究人类的发展、进化和遗传多样性。有学者对高加索人、西班牙人、美国黑人中SNPs遗传多样性进行研究,得出美国黑人主要源于非洲和欧洲的结论。此外,还有人利用DNA芯片技术对人类线粒体的SNP图谱作了研究,得出人类的祖先起源于非洲的结论。

SNPs也被用于研究生物进化。有作者应用DNA芯片探索现在人类的SNPs的来历。他们分析了与397个人类SNPs位点(认为是来自Amish、委内瑞拉和犹他州的人群的谱系),并比较了来自23个黑猩猩、19个小黑猩猩、11个大猩猩个体基因组的DNA样品中的相同位点,发现有214个位点的等位基因在人类和黑猩猩是共同的,因而认为这些是共同祖先等位基因。在不同的人类群体中会发现频率高和频率低的SNPs等位基因,因而认为频率高者更可能是从祖先传下来的。

(三)在药物基因组学中的作用

同一药物在不同个体产生的效果不是完全相同的。这种不同是由于药物本身在不同个体体内活化、代谢、清除方面的差异所决定的,而这种差异首先是遗传差异。基因组的多态性,尤其是SNPs多态性能充分地反映个体间的遗传差异。通过研究遗传多态性与个体对药物敏感性或耐受性的相关性,可以阐明遗传因素对药物效用的影响,从而为临床针对性的用药和药物的开发提供指导。

单个基因对药物效用的影响已有不少研究。例如,已知一些参与药物代谢的酶的基因和受体基因可以改变药物在体内的代谢和个体对药物的敏感性。但对于常见的疾病来说,了解单个基因对药物效用的影响是远远不够的,因为这些疾病的发病有众多基因和环境因素的参与,而单个基因或因素的贡献甚微,一般认为不会超过5%。因此,有必要在整体水平上全面认识多个基因的作用,而这只有基因组水平上才有可能做到。SNPs以其数量众多和易于批量检测,正好为此提供了条件。

目前,正在兴起的药物基因组学(pharmacogenomics)研究遗传因素对药物效用的影响和不同基因型个体对药物反应的差异,从而为有针对性地用药和根据不同基因型群体对药物的反应来改进药物设计提供了理论依据。这是当前制药行业对SNPs制图表现出空前兴趣并积极发展检测SNPs方法的原因。SNPs检测技术的发展令人们对"个体化医疗"时代的到来充满信心。

(四)在法医学中的作用

SNPs只涉及单个碱基的变异,因而检验SNPs意味着从单核苷酸水平对每个个体的DNA序列多态性进行鉴别,这在法医个人识别和亲子鉴定中具有巨大意义。法医物证检验对所选用的DNA多态性系统一般要求个体识别能力高,且遗传稳定性好,每次可以同步检测的位点数多或样本数多,成本低。SNPs仅具2个等位基因,信息量非常有限,因而需要同时进行大量SNPs位点检验,才能够提供满足个人识别和亲子鉴定所需的个体识别能力。美国Affymetrix公司开发出的诊断药物代谢缺陷症的人类细胞色素P-450芯片一次可进行500个SNPs的分型,这也为法医物证检验应用提供了可行性。

此外,SNPs研究可应用于疾病发生机制研究、器官移植中供体-受体间配型等方面。

四、研究进展和存在的问题

(一)SNPs的研究现状

SNPs对基因组学的意义及其在分子医学各领域中所具有的诱人的应用前景,使之成为实验室和公司争夺的对象(所谓的SNPs大战),欧美各国以及日本等围绕"基因多态性"的研究展开激烈的角逐,都

投入了大量人力和物力。许多著名的研究机构和企业集团纷纷参与到 SNPs 的研究之中，形成了许多营利性及非营利性组织。前者如美国的 Celera 基因组有限公司，计划发现大约 2 000 万个 SNPs，获得的所有信息将不对外公开，仅仅销售给与之订立合同的制药厂家。但基因是人类的共同资源，更多的非营利性组织也在努力工作着，如由众多著名的医学研究团体，以及大型企业集团和学术中心组成的“SNPs 协会”，其目标是建设一个公众可及的、高质量的人类基因组 SNPs 图。SNPs 协会的任务是进行 SNPs 的识别和分析并计划在最初的 2 年内识别 30 万个 SNPs，标出至少 15 万个 SNPs。目前协会已经识别出超过 14 万的 SNPs，对 102 719 个 SNPs 作了图。另外，人类基因组计划（HGP）和 SNP 协会共同宣布，他们计划建设一套新的人类 DNA 序列信息，计划找到 125 000 到 250 000 个有用的 SNPs 遗传标志。合作产生的所有数据都将公开，不限制其用途。由美国国家生物技术信息中心负责运营的公开数据库（NCBI），集中了由世界各地研究人员发现的 SNPs，截至 2000 年 7 月 10 日的登记数已达 39 万个。同时还有其他一些非营利组织如由美国辉瑞公司等著名制药厂以及 IBM 等计算机公司组成的“SNPs 国际财团”、日本东京大学医学院研究所和科学技术振兴事业团共同主办的“基因多态性数据库”等也为 SNPs 的研究做出了巨大贡献。

我国的科学家们同样已经注意到 SNPs 的巨大潜力以及我国丰富的人群以及民族资源，2000 年 10 月 21 日，我国 863 计划生物领域专家委员会首席科学家强伯勤教授宣布，我国将于 2000 年底启动中华民族基因组单核苷酸多态性（SNP）系统目录的构建与研究。

表 15－11 列举了几个著名的 SNPs 数据库及其网址。

表 15－11　几个著名的 SNPs 数据库及其网址

数据库名称	创建机构	网址
dbSNPs（Single Nucleotide Polymorphisms Database）	NCBI（the National Cancer for Biotechnology Information）	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNPs/
HGBASE（Human Genic Bi－Allelic Sequences Database）	Center for Genomic Research，Karolinska Institude	http://hgbase.cgr.ki.se/
MIT SNPs Database	MIT（美国麻省理工学院）Center for Genome Research	http://www.genome.wi.mit.edu/SNPs/human/（d）Human/
Celera SNPs Database	Center Corporation（PE）	http://www.celera.com/corporate/SNPsdata.html/

（二）SNPs 检验存在的问题

目前有许多理由表明 SNPs 是非常有价值的遗传标记，但在制作 SNPs 图、SNPs 分型、结果分析等方面还存在一些问题。首先，制作 SNPs 图理论上需要约 500 个有代表性的个体，开发一套密度至少在 100 000 左右的 SNPs。即使在多重 PCR 和 SNPs 芯片发展方面取得了很大的进步，仍需大量的单个扩增反应对每个 SNPs 片段进行扩增。以目前 100～1 000 美元/SNP 的成本，一般实验室难以进行。此外，在目前条件下大批量扩增和检测所产生的错误率仍然过高。

其次，难以确定用哪个 SNPs 解决特定的遗传问题。有关的解决办法尚需经过大量的不同种族、民族、区域性群体的调查和 SNPs 与遗传性状的相关性研究。

最后，虽然有了几个公开的 SNPs 数据库，但尚没有 SNPs 的民族群体、地理分布等资料，而这些对

于疾病基因作图是极其重要的。

同样，SNPs 用于法医学具有可行性，但已有的研究结果表明从生物检材中检测有用的 SNPs 要比人们想像的困难得多。另外，要从足够多的样本中分析 DNA 才能使数据有意义，而且世界上各种族和民族间的差异比较大，每一人群的研究需要不同的 SNPs 系统，而一个 SNPs 也许对不同的人群有不同的价值。当 SNPs 用于法庭科学时，需调查不同种族和民族 SNPs 多态性频率，而到目前为止，这项工作尚未真正起步。高通量 SNPs 筛查所需技术虽然自动化程度高，但费用要比 STR 检测要高得多，这也是阻碍其推广使用的原因之一。

不过，随着生物技术的迅猛发展，相信 SNPs 的巨大潜力和优越性会得到充分的发掘，并得到广泛的利用。

第七节 DNA 多态性分析的法医学应用

与传统的血清学等方法相比，生物 DNA 的多态性信息丰富得多，我们可以加以利用，来进行法医学各种特殊的鉴定。比如 Wickenheiser RA 等报道，皮肤细胞会转移至所拿的武器或其他物品上。在性犯罪的案件中，可见到受害者的细胞会转移到犯罪人的内裤上。他们已经成功地将衣服穿戴者的脱落皮肤细胞 DNA 抽提出来。曾有 1 例，用氰基丙烯酸盐粘合剂无法取得的指纹，却成功地做了 DNA 分型。用普通酒精拭子取材可能获得用蒸馏水无法获得的成功。从这些成功的个人认定案例中可看出，分析 DNA 多态性有着传统方法无可比拟的优越性。目前这方面的应用主要有以下几方面。

一、种属鉴定

种属鉴定在法医学上显得很重要，以往采用血清学方法，效果很好。但是，在微量检材的情况下，有可能损失一部分检材而不利于继续进行其他检测。如果采用种属特异的 STR 位点分型，则一次实验可以达到既确定是否是人的检材，又可以进行个人认定。如伍祥林等报道，下列 STR 位点只有用人的检材才会有 PCR 扩增产物：DYS389、DYS388、DYS390、D7S809、D13S631。也就是说，检测这些 STR 位点时只要有 PCR 扩增产物，则可以断定是人的检材，同时可以根据扩增产物的位置来确定检材的基因型，从而能同时进行个人识别；而另一些 STR 位点：DYS19、FES、PLA、D12S391、CSF1PO 等，虽然用人和动物的检材都可有 PCR 扩增产物，但是，人的检材的扩增产物会在人类该位点的等位基因阶梯范围内，而动物的检材的扩增产物则远远超出该范围。也有一些 STR 位点只在检测某种动物的检材时才会有扩增产物，别的动物的检材不会有相应的扩增产物。这就是所谓的种属特异性 STR 位点，据此可以进行种属鉴定。

二、性别鉴定

采用 X、Y 染色体特异的 STR 位点分析即可以达到此目的。同时，还可以根据其分型结果进行个人认定和亲子鉴定。X、Y 染色体的 STR 位点在单独进行检测时，其分辨率较低，但是可以用分析单倍型的方式大大提高其分辨率。中山医科大学法医物证学教研室已经制备了 X 和 Y 染色体的多位点复合扩增试剂盒，可检测 X 染色体上 DXS7132、DXS6799、DXS6804 等 7 个位点，Y 染色体上 DYS389、DYS388、DYS385、DYS390 等 10 多个位点。实际检测效率非常好，在法医学上很有应用价值。除了法医学的应用之外，性别鉴定在其他的研究领域里也常用到。

三、个人认定

按照目前所检测的 STR 位点数，人群中 2 个随机个体要达到全部基因型都相同的机会很小，只有 10^{-17} 以下（在作 15 个 STR 位点时达到的水平，如果检测的位点更多，其个人识别的能力会更高），因此目前的 STR 位点分析方法完全能够达到个人认定的要求。比如 Gavrilidis A 等用 FAM（荧光素）标记上游引物制成 2 套复合扩增 Y 染色体特异的 6 个 STR 位点分型试剂盒 QUAD。试剂盒 1 包括 DYS389 - II，DYS389 - I，DYS390 和 DYS393；试剂盒 2 包括 DYS391，DYS19 和 DYS156Y。在检查了 236 个白人无关个体后，发现了 146 种单倍型，其中 116 种单倍型在这些人群中是惟一的。还有，鉴于每个人的 STR 位点类型的个体特异性非常好，美国 FBI 计划在其联合 DNA 数据库（CODIS）中存储 10^8 个人的 STR DNA 图谱，每个人检测 16 个 STR 位点。其推荐的常用的 13 个 STR 位点（他们称为 Core STR Loci）是：TPOX（2 号染色体），D3S1358，FGA（4 号染色体），D5S818，D7S820，TH01（11 号染色体），vWA（12 号染色体），D13S317，D16S539，D18S51，D21S11，Amelogenin（X/Y 染色体）。

以上介绍的是利用普通 PCR 扩增多个 STR 位点来进行的个人认定。此外，对于一些法医学特殊检材，可采用不同的方法来达到目的。如 Devaney J 等用高效液相技术（HPLC）检测 STR，其中的离子对反相（ion - pair reversed - phase）HPLC 很有应用前景。再如 Smuts AL 等报道利用尿样本做 DNA 抽提，在男女之间尿中的上皮细胞和其他有核细胞有很大的不同。女性的尿样的 STR 分型结果很好，但男性的结果通常为阴性。而检测 mtDNA 时，女性和男性的结果都很清楚。还曾有报道对炸弹爆炸后碎尸块的个人认定。一个哑炮弹意外地爆炸，当时发现了 20 块炸碎的尸体碎块。用 DNA 指纹技术检测这些碎块是否来自一个人。先对抽提的 DNA 用 HinfⅠ和 HaeⅢ酶消化，再用 $(GTG)_5$ 的寡核苷酸探针杂交，结果用 HinfⅠ酶消化的证明 20 块碎尸块中 17 块是来自同一个人，再用 HaeⅢ消化的证明了其余 3 块也是来自上述的同一个人。还有学者致力于法医学微量检材的检测方法改进，如 Dimo - Simonin N 等报道 0.1 pg 的 mtDNA 用套式 PCR 足以扩增出 400 bp 的 HV1 PCR 产物进行测序。

值得提出的是，在进行个人认定时，有时会遇到难以下结论的情况，这时需要检测者有扎实的基础知识和丰富的工作经验才能做出合理的解释。如 McCue BJ 等报告了一个罕见的案例。在该个体所检测的 9 个 STR 位点中，有 4 个位点（vWA，FGA，TH01，D5S818）都表现为 3 个等位基因（所用试剂盒为 AmpF/STR Profiler™ PCR 扩增试剂盒，在 ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer 上检测）。3 位点都有 2 条“主带”和 1 条“次带”，即前者的荧光强度高，后者的强度低。经过多次实验证实了结果没错。后来了解到他有一个双胞胎兄弟。发生这种情况的原因可能是他们在胚胎期发生血液交换，因而出现一个位点具有 3 个等位基因的情况。

可见，在用 STR 分型作个人认定时，除了前面所介绍的注意事项外，尚需注意可能存在的异质性、结果的解释、数据的计算等许多环节。

下面是目前常用的 2 种 STR 复合扩增试剂盒的扩增位点：

AmpFL STR® Profiler Plus 试剂盒的位点有：D3S1 358，vWA，FGA，D8S1 179，D21S11，D5S818，D13S317，D7S820，Amelogenin（性别）。

GenePrint® Power Plex™ 试剂盒的位点有：Penta E，D18S51，D21S11，TH01，D3S1 358，FGA，TPOX，D8S1 179，vWA，Amelogenin（性别），Penta D，CSF1PO，D16S539，D7S820，D13S317，D5S818。

四、亲子鉴定

这是目前 STR DNA 分型应用最多的领域。方法已经相当成熟，这里提出一些特殊情况下的处理方法。

1. 某些人为制造违反遗传规律的假象的情况。例如，不愿抚养孩子，想逃避法律责任，在进行亲子鉴定抽血之前输入大量别人的血液，结果造成在鉴定其STR类型时出现混乱的结果。此时只需隔一段时间后在监视下再次采血进行检测，或采集其他部位的细胞如口腔黏膜细胞（用口腔拭子）来进行检测即可。

2. 注意利用STR分型以外的信息解释一些矛盾现象。如Tseng LH等报道一位母亲，她有14个子女。其中一个在59岁被发现患有成人T-细胞白血病。该病人是由Ⅰ型T-淋巴细胞病毒（HTLV-Ⅰ）引起。该病一般认为是由母婴垂直传播，或通过性接触水平传播，或通过输血引起的。这位母亲和其他13个子女都证实是HTLV-Ⅰ血清学阴性，台湾也不是HTLV-Ⅰ的流行区。因此怀疑这个病人是该母亲的养子。结果用13个STR位点证实他们是一对母子的关系。而HTLV-Ⅰ的矛盾现象通过对病人和他妻子（无病的携带者）的HTLV-Ⅰ作序列分析说明，他们之间可以互相水平传播。

3. 注意双生子案例的特殊性。如前文介绍过的McCue BJ等报告的4个STR位点都表现为3个等位基因的案例。

最后应该指出的是，每一个案件的法医学检材都有其特殊性，比如影响标本腐败程度的因素在不同案件中是千差万别的。这些因素会使检材中的DNA链降解，造成在进行各种鉴定时解释结果的困难。需要在实际工作中积累经验来解决这些问题。

第八节 DNA多态性分析在其他方面的应用

一、疾病诊断

（一）LOH与疾病诊断

杂合性丢失（LOH）是一种在某些肿瘤患者中的特殊现象。对于某个微卫星DNA位点的基因型，该患者本来是杂合子，在患者的血液和其他的正常组织中都表现为杂合子基因型，但是在患者的肿瘤组织中，却缺失了其中的一个等位基因而表现为纯合子。例如Medintz IL等（2000年）检测了26例原发性肾肿瘤患者的淋巴细胞和肿瘤组织对（pairs），发现这种现象，其发生率达到10%或更高。Vassilakis DA等（2000年）报道特发性肺纤维化的患者与癌症患者一样，同样表现出明显的LOH和微卫星DNA不稳定（MSI）。而这种病又与支气管源性癌症具有明显的关系。因而作者认为微卫星DNA类型的遗传学上的改变与肿瘤发生有关。

根据这些特点，可以通过检测患者痰液细胞DNA的STR类型来筛查支气管癌或肺癌，通过检查尿液细胞来筛查肾肿瘤或膀胱肿瘤。

（二）微卫星DNA不稳定与疾病

所谓微卫星不稳定（MSI）是指与DNA错配修复机制缺陷有关的基因组不稳定。这种不稳定与肿瘤发生有关，具体表现为肿瘤组织细胞与癌旁正常细胞的微卫星DNA重复序列的长度有差异，它可以由重复序列的插入或缺失引起。

Thibodeau SN等首先发现MSI与结肠癌、直肠癌和HNPCC（hereditary nonpolyposis colorectal cancer）综合征的相关性是在1993年。MSI是因DNA错配修复系统在错配修复失败以后引起的。DNA链上单碱基错配的积累，就会改变微卫星DNA简单重复序列的长度，而简单重复序列是遍布整个基因组的，因此这种现象在相关肿瘤组织中相当普遍。有学者认为这些简单重复序列的突变与家族性癌症相关。现在知道许多肿瘤或疾病都与微卫星DNA的不稳定性或新基因的产生有关。

1997年，美国国家癌症研究院发起召开了“国际MSI和癌症检测RER表型和家族易感性研讨会（The International Workshop on Microsatellite Instability and RER Phenotypes in Cancer Detection and Famil-

ial Predisposition)"。会上推荐用5个微卫星DNA标记对肿瘤进行检测。这次研讨会提出将MSI分为3类:MSI高频类(MSI-H),其5个微卫星DNA标记中有2个以上为不稳定;MSI低频类(MSI-L),其不稳定的微卫星DNA标记只涉及一个标记位点;还有一类为没有不稳定的微卫星DNA标记,称为微卫星DNA稳定类(microsatellite stability,MSS)。MSI-L与MSS之间的区分,常常需要通过检测更多的微卫星DNA标记才能知道。

研究表明,肿瘤组织的特点是MSI的发生率高。如15%的MSI-H为临床和病理表型都一致的结肠癌、直肠癌,MSI-H类的结肠癌、直肠癌多见于近端结肠。此类肿瘤往往对化疗的敏感性差。MSI的高低可用新鲜的或固定好的肿瘤组织检测,推荐用微解剖(microdissection)的方法(即在显微镜下区分正常组织和病变组织)获得肿瘤组织。目前的观点认为,如果检测的微卫星DNA标记的数量足够,则所有的结肠癌都会显示某种程度的MSI。

最常用于检测MSI的微卫星DNA标记是2核苷酸重复序列,也有用单核苷酸、3核苷酸和4核苷酸微卫星DNA标记。表15-12列出国际研讨会推荐的评估MSI时使用的微卫星DNA标记。

表15-12 国际MSI和癌症研讨会推荐的微卫星DNA标记

标记	重复单位	GenBank
BAT25	单核苷酸	9 834 508
BAT26	单核苷酸	9 834 505
D5S346	2核苷酸	181 171
D2S123	2核苷酸	187 953
D17S250	2核苷酸	177 030

还有BAT40、BAT34C4、TGFβ-RⅡ、ACTC(635/636)、D18S55、D18S58、D18S61、D18S64、D3S1029、D10S197、D13S175、D17S588、D5S107、D8S87、D18S69等10多个可供选用的微卫星DNA标记。

若检测的位点多时,采用下列标准区分:MSI-H≥30%~40%,MSI-L<30%~40%。

此外,其他一些类型的肿瘤,如胃癌,也可表现出微卫星DNA不稳定性(表15-13)。

表15-13 胃癌时STR的不稳定性及杂合丢失率

位点	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820
不稳定性(%)	12.2	21.3	7.3	13.9	2.5	18.5	14.3	16.3	11.8
LOH	4.9	4.3	9.7	6.9	12.5	11.1	14.3	16.3	5.9

另外,还有报道类风湿性关节炎与患者的γ干扰素基因(interferon-gamma gene)的第一个内含子的微卫星DNA不稳定有关。Takayasu's关节炎、肾肿瘤、家族性肥大性心肌病(familial hypertrophic cardiomyopathy)等都与此有关。

二、产前、受精卵种植前基因诊断

可利用DNA分析技术,检测人工授精的受精卵或怀孕早期的羊水细胞来进行一些先天性遗传病的诊断。如用基因组扫描的技术可以确定隐性遗传的多囊肾致病基因(PKHD1)在第6号染色体上。还可

进行 21、18、13、X 等三体综合征的产前诊断。

三、疾病相关性分析

人类的大多数疾病几乎都存在着一定的基因背景，即某种疾病与某种基因型或某种基因异常相关。我们可以利用 DNA 多态性分析技术来揭示这种相关性，称之为疾病相关性分析。比如在慢性髓细胞性白血病的慢性期，患者免疫球蛋白重链基因会表现出异常类型；一些胰岛素依赖型糖尿病与某种特异的 HLA 基因型密切相关等。几乎所有的 DNA 多态性分析技术均可用于这方面的研究。

四、双生子分析

利用多个 STR 位点可以确定双生子是单卵双生抑或是双卵双生。许多遗传性或遗传倾向性疾病都与遗传物质的变异有关，因此单卵双生的 2 个个体容易患同一种疾病，而双卵双生的这种机会就低得多。这一点在某些怀疑是遗传性或有遗传倾向性疾病的研究中很有价值。曾有报道一对双胞胎中的一个因吃了毒蘑菇引起间质性肾炎，伴发急性肾功能衰竭。然后从他的双胞胎兄弟中取了一个肾作了肾移植。当时假定他们是双卵双生，术后常规应用免疫抑制药物。15 年后用 DNA 指纹技术检测，发现该兄弟是单卵双生，患者停用免疫抑制疗法。此后再观察 9 个月，情况良好。因此作者建议双胞胎出生时如果性别相同，就应该检查是否单卵双生。

五、器官移植、骨髓移植

DNA 分析技术还可应用于骨髓移植后检测移植的骨髓是否成活。方法通常通过检测受者血液里流动的细胞是不是供者的（即其 STR DNA 类型是否与供者本人相同）。如果是肯定的，则说明移植进去的骨髓成活，否则，说明骨髓移植是失败的。

六、细菌及病毒种属和株的鉴定

在细菌流行病学调查、临床病原体诊断等方面，目前也可采用 DNA 分析技术。这方面的例子很多，如检测结核菌的流行病学资料，多药耐药性链球菌的鉴定，确定包柔螺旋体病的遗传学特征，确定新型流感病毒株等。

七、确定细胞株的特性

实验室建立细胞株需确定细胞株的特性时，也可应用 DNA 分析技术。如 Uhlmann K 等（1999 年）利用 DNA 指纹图方法比较了来自不同神经胶质瘤病人的细胞株之间基因组的差异。了解这方面的信息，对于实验时选用合适的细胞株是十分必要的。

八、人类学的应用

DNA 分析技术还可以应用于人类学的研究，如研究不同人种之间的关系，各地人种的来源等。比如最近复旦大学的一项研究表明，台湾高山族是来源于上海地区的人群。他们采用的方法就是分析比较两地人群基因组的差异，从而得出上述结论的。

参 考 文 献

1 吕德坚,伍新尧. ABO 血型的基因型与法医学应用. 法律与医学杂志,2000,7(1):27~29

2 吕德坚,李建金,刘秋玲,等. ABO 血型异常遗传的亲子鉴定案. 法医学杂志,2000,16(3):179~180

3 Mine H, Ishikana Y, Hojo M, *et al*. An HLA-B mull allele (B* 1526N) with a stop codon in exon 3 generated by a point mutation. Tissue Antigens,1997, 50: 351~354

4 Iskikawa Y, Tokunaga K, Tanaka H, *et al*. HLA-A null allele with a stop codon, HLA-A* 0215N, identified in a homozygous state in a healthy adult. Immunogenetics,1996, 43(1): 1~5

5 伍新尧,罗超权,马洞泉主编. 分子遗传学与基因工程. 郑州:河南医科大学出版社.1997. 171~186

6 Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. Nature,1985, 316: 76~79

7 Groover JC, Holland MM, Roux MGL. An international study on the detection of heteroplasmy in mitochondrial DNA. In:《Poster Abstracts》of 10th International symposium on Human Identification. Promega Company,1999. 10

8 Budowle B. Interpretation guidelines for mtDNA typing. In:《Speaker Abstracts》of 10th International symposium on Human Identification. Promega Company,1999. 18

9 孙宏钰,郭景元. STR 基因座等位基因阶梯制备方法尝试. 中国法医学杂志,2000,15(增刊): 33~34

10 李建金,伍祥林,吕德坚,等. 短串联重复基因座突变率的分析研究. 中国法医学杂志,2000,15(增刊):10

11 庾蕾,伍新尧,李建金,等. 短串联重复序列遗传突变的观察. 见:中国法医学会主编. 中国法医学最新科研与实践. 北京:中国人民公安大学出版社,2000. 161~162

12 侯一平. 法医常染色体 STR 分型. 中国法医学杂志,2001,16(1):1

13 Gavrilidis A, Sebalj S, Ashdown ML. Mutations, variations and missing alleles in the STR systems. In:《Poster Abstracts》of 10th International symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 1

14 Weber JL, Wong C. Mutation of human short tandem repeats. Hum Mol Genet,1993, 2: 113~128

15 Brinkmann B, Sajantila A, Goedde HW, *et al*. Population genetic comparison among eight populations using allele frequency and sequence data from three microsatellite loci. Eur J Hum Genet, 1996, 4(2):175~182

16 Bernd B, Michael K, Franz N, *et al*. Mutation rate in human microsatellites: Influence of the structure and length of the tandem repeat. Am J Hum Genet,1998,62:1 408~1 415

17 Medintz IL, Lee CC, Wong WW, *et al*. Loss of heterozygosity assay for molecular detection of cancer using energy-transfer primers and capillary array electrophoresis. Genome Res,2000, 10(8): 1 211~1 218

18 Schneider A, Borgnant S, Lang H, *et al*. Evaluation of microsatellite analysis in urine-sediment for diagnosis of bladder cancer. Cancer Res,2000, 60(6): 4 617~4 622

19 Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature, 1985, 314: 67~73

20 Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA 'fingerprints'. Nature, 1985, 318: 577 ~ 579

21 Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, *et al*. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res, 1990, 18(22): 6 531 ~ 6 535

22 杨建厂，伍新尧，罗超权，等. APHDF 技术及其初步应用的研究. 生物化学杂志，1997，专刊：141

23 伍新尧，罗超权，杨英浩. 人 DNA 指纹的研究. 中国法医学杂志，1989，4(4)：207 ~ 209

24 中国科技信息杂志社编辑部等主编. 中华优秀专利技术精选. 北京：工商出版社，1998. 168

25 Anderson S, Bankier AT, Barrell BC, *et al*. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature, 1981, 290(5 806): 457 ~ 465

26 Dimauro S, Wallace DC. Mitochondrial DNA in human pathology. New York: Raven Press, 1993. 9 ~ 12

27 Holland MM, Roby RK, Fisher DL, *et al*. Identification of human remains using mitochondrial DNA sequencing: potential mother – child mutational events. In: Advances in Forensic Haemogenetics 5 edited by Bar W, Fiori A and Rossi U. Berlin: Springer – Verlag Berlin Heidelberg, 1994. 399 ~ 406

28 Baasner A. Polymorphic sites in human mitochondrial DNA control region sequences: population data and maternal inheritance. Forensic Sci Int, 1998, 98(3): 169 ~ 178

29 Seo Y, Stradmann – Bellinghausen B, Rittner C. Sequence polymorphism of mtochondrial DNA control region in Japanese. Forensic Sci Int, 1998, 97(2 ~ 3): 155 ~ 164

30 Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. Mitochondrial DNA and human evolution. Nature, 1987, 325 (6 099): 31 ~ 36

31 Budowle B, Wilson MR, Dizinno J A. Mitochondrial DNA regions HV I and HV II population data. Forensic Sci Int, 1999, 103(1): 23 ~ 35

32 Horai S, Hayasaka K. Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. Am J Hum Genet, 1990, 46(4): 828 ~ 842

33 Bendall KE, Sykes BC. Length heteroplasmy in the first hypervariable segment of the human mtDNA control region. Am J Hum Genet, 1995, 57(2): 248 ~ 256

34 Pai CY, Chou SL, Tang TK, *et al*. Haplotyping of mitochondrial DNA in the D – loop region by PCR: forensic application. J Formos Med Assoc, 1997, 96(2): 73 ~ 82

35 Chen YS, Torroni A, Excoffier L, *et al*. Analysis of mtDNA viariation in African populations reveals the most ancient of all human continent – specific haplogroups. Am J Hum Genet, 1995, 57(1): 133 ~ 149

36 伍新尧，罗超全，马涧泉主编. 分子遗传学与基因工程. 郑州：河南医科大学出版社，1997. 183

37 Stoneking M, Hedgecock D, Higuchi RG, *et al*. Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequence – specific oligonucleotide probes. Am J Hum Genet, 1991, 48(2): 370 ~ 382

38 刘冰，陈松，张纯斌，等. 脱落毛发线粒体 DNA HV1 区序列测定的研究. 法律与医学杂志，1999，6(4)：158 ~ 160

39 刘开会，李宗亮编. 实用法医 DNA 检验学. 西安：西安出版社，2000. 232

40 卢圣栋主编. 现代分子生物学实验技术. 北京：中国协和医科大学出版社，1999. 352

41 Holland MM, Fisher DL, Mitchell LG, *et al*. Mitochondrial DNA Sequence analysis of human skeletal remains: Identification of remains from the Vietnam war. J Forensic Sci, 1993, 38(3):

542 ~ 553

42 Wilson M R , Polanskey D, Butler J, *et al*. Extraction, PCR amplification and sequencing of mitochondrial DNA from human hair shafts. Biotechniques, 1995,18(4):662 ~ 669

43 Vigilant L, Pennington R, Harpending H, *et al*. Mitochondrial DNA Sequences in single hairs from a southern African population. Proc Natl Acad Sci USA , 1989, 86(23):9 350 ~ 9 354

44 Higuchi R ,Von Beroldingen CH , Sensabaugh GF, *et al*. DNA typing from single hairs. Nature, 1988, 332 (6164):543 ~ 546

45 Orrego C, King MC. Determination of familial relationships. In: Innis MA, *et al*. PCR protocolsl. London: Academic Press, 1990. 416

46 Sullivan KM, Hopgood R, Gill P, *et al*. Identification of human remains by amplification and automated sequencing of mtDNA. Int J Leg Med, 1992, 105(2):83 ~ 86

47 Gill P, Ivanov PL, Kimpton C. Identification of the remains of the Romanoo family by DNA analysis. Nat Genet ,1994, 6 (2): 130 ~ 135

48 张纯斌,周静,宋慧娟. 用 PCR - 测序法对人类线粒体 DNA 多态性区的研究. 中国法医学杂志, 1995, 10 (3):129 ~ 132

49 李生斌著. 人类 DNA 遗传标记. 北京:人民卫生出版社, 2000. 261

50 Comas D, Paabo S, Bertranpetit J. Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. Genome Research , 1995, 5(1):89 ~ 90

51 Bendall KE, Macaulay VA, Baker JR, *et al*. Heteroplasmic point mutation in the human mt DNA control region. Am J Hum Genet ,1996, 59(6):1 276 ~ 1 287

52 Parsons TJ, Muniec DS, Sullivan K, *et al*. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. Nat Genet , 1997, 15(4):363 ~ 368

53 Sullivan KM, Alliston - Greiner R, Archampong FIA, *et al*. A single diffience in mtDNA control region sequence observed between hair shaft and reference samples from a single donor. In: Proceedings from Seventh International Symposium on Human Identification;1996 Sept 19 - 21; Scottsdale (A2). Promega Corporation,1996. 126 ~ 129

54 Wilson MR, Polanskey D, Replogle J, *et al*. A family exhibiting heteroplasmy in human mitochondrial DNA control region reveals both somatic mosaicism and pronounced segregation of mitotypes. Hum Genet ,1997,100(2):167 ~ 171

55 Bendall KE, Macaulay VA, Sykes BC. Variable levels of a heteroplasmic point mutation in individual hair roots. Am J Hum Genet , 1997,61(6):1 303 ~ 1 308

56 Holt IJ , Harding AE, Morgan Hughes JA, *et al*. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. Nature ,1988, 331(6 158):717 ~ 719

57 Wallace DC, Singh G , Lott MT , *et al*. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. Science, 1988, 242(4 884):1 427 ~ 1 430

58 Chinnery PF, Howell N, Andrews RM, *et al*. Mitochondrial DNA analysis: polymorphisms and pathogenicity. J Med Genet, 1999, 36(7):505 ~ 510

59 Van Holst Pellekaan S, Frommer M, Sved J, *et al*. Mitochondrial control - region sequence variation in aboriginal Australians. Am J Hum Genet,1998, 62(2):435 ~ 449

60 Vigilant L, Stoneking M, Harpending H. African populations and evalution of human mitochondrial DNA. Science, 1991, 253(5 027):1 503 ~ 1 507

61 Handt O, Krings M, Warol RH, *et al*. The retrieval of ancient human DNA sequences. Am J Hum

Genet, 1996, 59(2):368 ~ 376

62 Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics, 1989, 1 239 (3): 585 ~ 595

63 Lee SD, Shin CH, Kim KB, *et al*. Sequence variation of mitochondrial DNA control region in Koreans. Forensic Sci Int, 1997, 87(2):99 ~ 116

64 Marshall E. The hunting of the SNPs. Science, 1997, 278:2 046

65 Kruglyak. The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies. Nat Genet, 1997, 17(1): 21 ~ 24

66 Collins FS, Guyer MS, Chakravarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. Science, 1997, 278(5 343): 1 580 ~ 1 581

67 Garber K. More SNPs on the way. Science, 1998, 281(5 384): 1 788

68 Delahunty C, Ankener W, Deng D, *et al*. Testing the feasibility of DNA typing for human identification by PCR and an oligonucleotide ligation assay. Am J Hum Genet, 1996, 58(6): 1 239 ~ 1 246

69 Housman D, Ledley FD. Why pharmacogenomics? Why now? Nat Biotechnol, 1998, 16(6): 492 ~ 493

70 Long AD, Langley CH. The power of association studies to detect the contribution of candidate genetic loci to variation in complex traits. Genome Res, 1999, 9(8): 720

71 Butler – JM. STR Analysis by Time – of – Flight Mass Spectometry. Profilers in DNA, 1999, 2(3):3

72 Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, *et al*. Sequence – selective recognition of DNA by strand isplacement with a thymine – substituded polyamide. Science, 1991, 254(5 037): 1 497 ~ 1 500

73 Ross PL, Lee K, Belgrader P. Discrimination of single nucleotide polymorphisms in human DNA using peptide nucleic acid probes detected by MALDI – TOF Mass spectrometry. Anal Chem, 1997, 69(20): 4 197 ~ 4 202

74 Li J, Butler JM, Tan Y, *et al*. Single nucleotide polymorphism determination using primer extention and time – of – flight mass spectrometer. Electrophoresis, 1999, 20(6): 1 258 ~ 1 265

75 Pastinen T, Kurg A, Metspalu A, *et al*. Minisequencing: a specific tool for DNA analysis nd diagnostics on oligonucleotide arrays. Genome Res, 1997, 7(6): 606 ~ 614

76 Lizard PM, Huang X, Zhu Z, *et al*. Mutation detection and single – molecule counting using isothermal rolling – circle amplification. Nat Genet, 1998, 19(3): 225 ~ 232

77 伍祥林, 李建金, 伍新尧. 20 个 STR 基因座的种属特异性研究. 中国法医学杂志, 2000, 15(增刊): 15 ~ 17

78 唐双柏, 刘超, 李越, 等. DYS392 基因座多态性及其在法医学应用. 中国法医学杂志, 2000, 15(增刊): 39 ~ 41

79 唐双柏, 郭景元, 刘超, 等. 广州地区汉族人群 Y 染色体多个位点的研究. 法医学杂志, 1999, 15(2): 86 ~ 87

80 Knijff P, Kaysor M, Caglia A, *et al*. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. Int J Legal Med, 1997, 110(3): 134 ~ 149

81 Prinz M, Ishii A, Sansone M, *et al*. Experiences with using Y chromosome specific STRs in Forensic casework. In: 《Speaker Abstracts》 of 10th International symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 19

82 Silva F, Gusmao L, Alves C, *et al*. Detection of microsatellite instability in gastric carcinoma, using the AMPF/STRTM profiles plus PCR amplification kit. In: 《Poster Abstracts》 of 10th International

Symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 44

83 Devaney J, Girard JE, Marino M. Short tandem repeat analysis using high performance liquid chromatography. In: 《Poster Abstracts》 of 10th International symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 11

84 Devaney J, Girard JE, Marino M. Short tandem repeat analysis using high performance liquid chromatography. In: 《Poster Abstracts》 of 10th International Symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 11

85 Smuts A, Pogue PD. DNA from urine as a potential source of identification. In: 《Poster Abstracts》 of 10th International Symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 25

86 Simonin ND, Grange F, Casadevall CB, *et al*. Performance of different DNA polymerases in the amplification and sequencing of the mtDNA control region. In: 《Poster Abstracts》 of 10th International Symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 4

87 McCue BJ, Rubocki RJ, Shepherd SJ, *et al*. Multiple alleles at four STR loci: contamination or ……? In: foct 《Poster Abstracts》 of 10th International Symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 61

88 Tseng LH, Lin MT, Hsu CH, *et al*. Development of adult T - cell leukemia in a patient with HTLV - I seronegative mother: confirmation of parentage using 13 short tandem repeat loci analysis. In: 《Poster Abstracts》 of 10th International Symposium on Human Identification. Promega Company, 1999. 37

89 Vassilakis DA, Sourvino G, Spandidos DA, *et al*. Frequent genetic alterations at the microsatellite level in cytologic sputum samples of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162(3pt 1): 1 115 ~ 1 119

90 Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon [see comments]. Science, 1993, 260(5 109): 816 ~ 819

91 Boland CR, Thbodeau SN, Hamilton SR, *et al*. A National Cancer Institute Workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: Development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer Res, 1998, 58: 5 248 ~ 5 257

92 Uhlmann K, Marczinek K, Hampe J, *et al*. Changes in methylation patterns identified by two - dimensional DNA fingerprinting. Electrophoresis, 1999, 20(8): 1 748 ~ 1 755

第十六章 法医检案的特殊技术

■ 伍新尧 胡 蓉

第一节 微量检材的全基因组 DNA 扩增

在法医学实践中，经常会遇到一些陈旧、微量的检材需要进行基因分型；另外，在其他一些医学领域，比如需要进行体外受精植入前基因诊断时，也会遇到类似的情况。这时，首先需要解决的问题是样品量少，进行多个基因或基因座的分析有很大困难。这时可以通过全基因组扩增（whole genome amplification）技术来解决这个难题。全基因组扩增可以明显提高整个基因组 DNA 序列的量，再进行基因组 DNA 某些基因或序列的分析就有了足够的检材。目前，可以通过下述的几种技术来达到这一目的。

一、散在重复序列 - PCR 技术

基因组中含有大量的散在重复序列，它包括短散在重复序列（short interspersed nucleotide elements，SINEs）和长散在重复序列（long interspersed nucleotide elements，LINEs）。SINEs 片段长度一般为 100 ~ 300 bp，不超过 500 bp，在基因组中的拷贝数超过 10^5 份。典型的 SINEs 序列含有一个 RNA 聚合酶Ⅲ启动子，其 3′端为多聚腺苷酸（polyA）或简单重复序列及可变重复序列。SINEs 序列在物种之内相对保守，人类基因组中主要是 *Alu* 重复序列，占总序列的 10% 左右，在单倍体中约有 900 000 个拷贝，2 个 *Alu* 重复序列相距平均约 4 kb。此重复序列在基因组中的分布是不均匀的，主要分布于 G - C 富集区。*Alu* 重复序列在基因工程开展的早期是用来作为从人和啮齿动物细胞形成的杂种细胞 DNA 文库中分离、鉴定人的基因或 DNA 序列的探针。

LINEs 序列全长 5 ~ 7 kb，又称为 L1。人类基因组中有 10 万份拷贝以上的 L1，占总序列的 15% 左右，主要分布于 A - T 富集区。

（一）基本原理

散在重复序列 - PCR（interspersed repeated sequence - PCR，IRS - PCR）是利用基因组中大量存在的散在重复序列作为引物结合位点（priming sites）来扩增基因组片段。在扩增人类基因组 DNA 时主要

是利用 *Alu* 或 L1 2 类序列的特点来设计引物。例如 Nelson DL 等（1989 年）最早利用 IRS－PCR 从人与啮齿动物杂交细胞中扩增人源性染色体，设计的引物 TC－65 5′端含有一个 *Not* Ⅰ识别位点，3′端含有 17 bp 的 *Alu* 序列；引物 278 的 5′端含有一个 *EcoR* Ⅰ识别位点，3′端含有 25 bp 的 *Alu* 序列；引物 32 含有 20 bp 的相同 *Alu* 重复序列（图 16－1A，图 16－1B）。

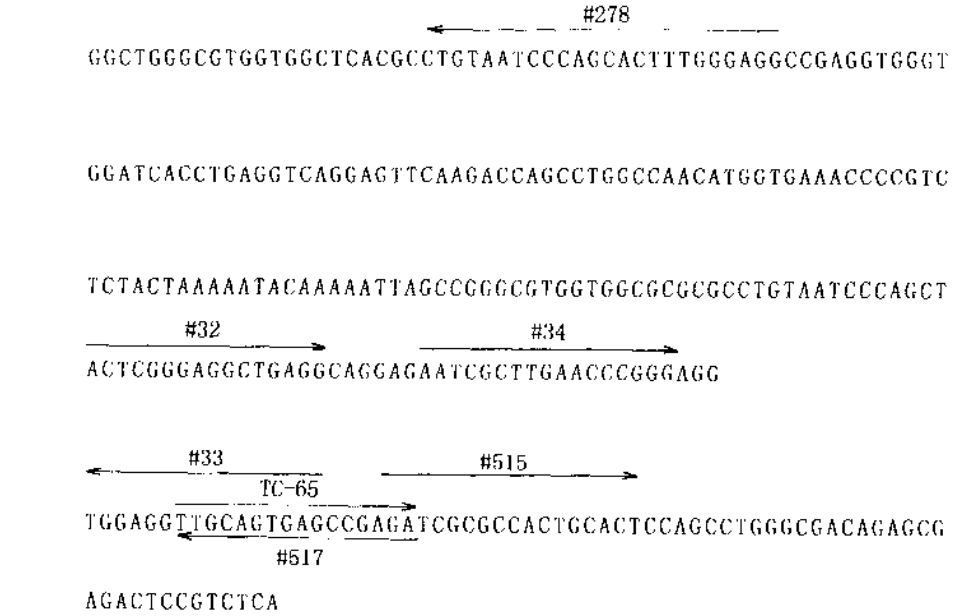


图 16－1A　*Alu* 保守序列及其用于 *Alu* －PCR 的引物结合序列

#278、#32、#34、#33、#515、#517 及 TC－65 为 *Alu* －PCR 的引物，箭头方向表示引物延伸方向

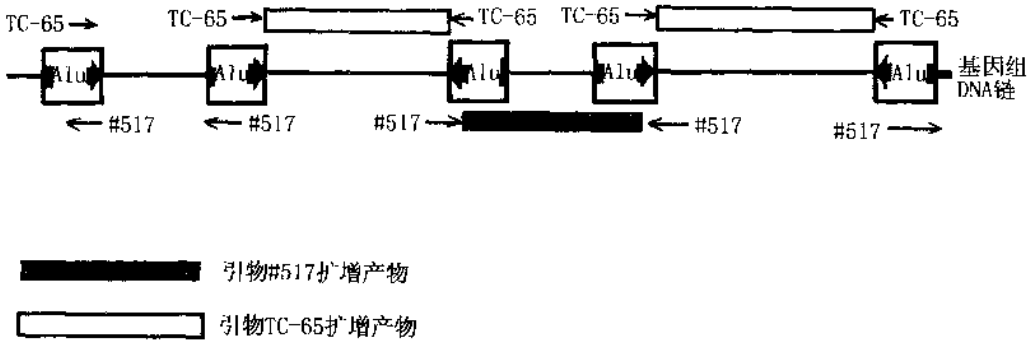


图 16－1B　利用人特异性引物#517、TC－65 进行 *Alu* －PCR 扩增示意图

（二）局限性

Alu 重复序列在基因组中的排列大多方向相同，例如在次黄嘌呤磷酸核糖转移酶（hypoxanthine phosphoribosyl transferase，HPRT）基因中的 *Alu* 重复序列方向相同，纤溶酶原激活物抑制剂 1 基因座含有 12 个 *Alu* 重复序列，所有这些重复序列方向都相同。因为相邻的 2 个方向相同的重复序列之间的片段不能通过 IRS－PCR 扩增，因而希望用此方法来扩增基因组 DNA 会导致大量 DNA 片段或多态性基因位点丢失。此外，由于重复序列在基因组中的分布不均匀，有些区域多，而有些区域则缺乏。L1 重复

序列主要分布在染色体 G－暗带，即在 DNA 序列的 A－T 富集区，而 *Alu* 重复序列主要分布于染色体 G－明带，即在 DNA 序列的 G－C 富集区。这样也会导致基因组扩增的不完全，从而使得这一方法的应用受到限制。此外，散在重复序列的分布具有种属特异性，在扩增前必须了解这些重复序列在各物种 DNA 序列中的分布情况，而采用相应的特异性引物进行扩增。

（三）应用

1. 检测人类特异性 DNA 序列　Nelson DL 等（1989 年）首先利用 *Alu* 序列作为 IRS－PCR 扩增的第一个引物结合序列，并将此方法称为 *Alu*－PCR。目的是利用 *Alu* 家族具有人类特异性，从啮齿类动物细胞和人类染色体的杂交细胞中分离人类特异性的序列。种属之间杂交细胞的建立及染色体显带技术的发现使得人类基因组图谱的绘制快速发展。人－啮齿动物杂交细胞中含有单个、完整的、可选择的人源性染色体，可用于分析体细胞染色体与遗传性状的关系、基因组图谱绘制、基因调控研究等。从杂交细胞中分离人源性染色体和亚染色体片段一般需要建立重组文库及识别杂交细胞克隆，利用 IRS－PCR 技术可直接从单个杂交细胞中分离人源性染色体和亚染色体片段，也可用于从 YAC 克隆分离人源性插入片段，以及制作以噬菌体为载体的人源性特异性探针。将 *Alu*－PCR 程序进行一些修改，Ledbetter SA 等（1990 年）利用 L1 序列进行 IRS－PCR 来分离染色体、亚染色体人类特异性的基因组区域，IRS－PCR 还可以从复杂 DNA 或染色体区域寻找人源性微卫星 DNA 标记（de Souza AP 等 1994 年，Davies W 等 1994 年）。

2. 制作大量的人源性染色体或亚染色体区域的探针　与其他方法相比，这种方法具有简单、省时、省力，而且不需要进行克隆的优点。

3. 检测人或动物基因组 DNA 多态性　Sinnett D 等（1990 年）利用 *Alu* 特异性引物检测人类基因组的“*Alu* 态”（alumorphs）标记，用于绘制人类基因组连锁图谱。用这一标记检测人类基因组时，基因组 DNA 片段表现为有/无（+/－）的特性。利用 *Alu*－PCR 分析人类不同个体 DNA 样本时发现扩增产物的一些片段在不同个体之间表现出大小不同，家系研究表明这些多态性片段是以孟德尔遗传方式遗传。

4. 用于物种内多态性研究　由于各物种有自己特有的散在重复序列，因此 IRS－PCR 产物具有物种的特异性。IRS－PCR 种属特异性图谱可用于生物学和法医学上的种属鉴定。同时，IRS－PCR 特异性图谱反映相关物种进化的相互关系，为系统发生学研究提供了一个有用的工具。

二、接头－转换器－PCR 方法

（一）基本原理

接头－转换器－PCR（linker－adaptor－PCR）技术是将整个基因组 DNA 用某种限制性内切酶切成许多含有黏性末端的 DNA 片段，再分别将这些片段与接头转换器连接，利用接头转换器的 20－mer 寡核苷酸序列设计引物进行 PCR 扩增。

例如 Vooijs M 等（1993 年）利用 *Sau*3A－接头－转换器－PCR，其主要的操作程序如下。

1. *Sau*3A－接头转换器的准备　它是由 24－mer 和 20－mer 寡核苷酸序列通过复性产生 5′端含有限制性酶 Sau3A 识别位点的序列（限制性酶 *Sau*3A 识别序列为/GATC）。序列如下所示：

5′p－GATC AGA AGC TTG AAT TCG AGC AG－3′

3′……TCT TCG AAC TTA AGC TCG TC－5′

*Sau*3A－接头转换器的特性：24－mer 的寡核苷酸序列的 5′端磷酸化，20－mer 的寡核苷酸序列的 5′端去磷酸化。24－mer 序列 5′端的 4 个碱基序列为 *Sau*3A 的识别序列，这样在连接酶的作用下可以将接头转换器与 *Sau*3A 酶切的染色体 DNA 片段连接，而 20－mer 的寡核苷酸序列 5′端去磷酸化，连接过程中在接头转换器的黏性末端可以阻止这 2 个寡核苷酸序列连接形成 44－mer 的序列作为模板，复性时自身形成发夹结构而干扰扩增。

2. 连接　将 *Sau*3A 酶切的染色体 DNA 片段与接头转换器连接。

3. PCR 扩增　染色体 DNA 通过接头转换器进行 PCR 扩增；利用接头转换器的 20 – mer 的寡核苷酸序列设计 PCR 扩增的引物。

4. 纯化　将扩增产物纯化、*Sau*3A 酶切、琼脂糖凝胶分离去除转换器分子后再次纯化。

整个操作程序可见图 16 – 2。

通过其他限制性酶如 *Mbo* Ⅰ（GATC）、*BamH* Ⅰ（GGATCC）、*Bgl* Ⅱ（AGATCT）、*Bst* Ⅰ（puGATCpy）进行酶切产生的片段，也可与转换器连接。

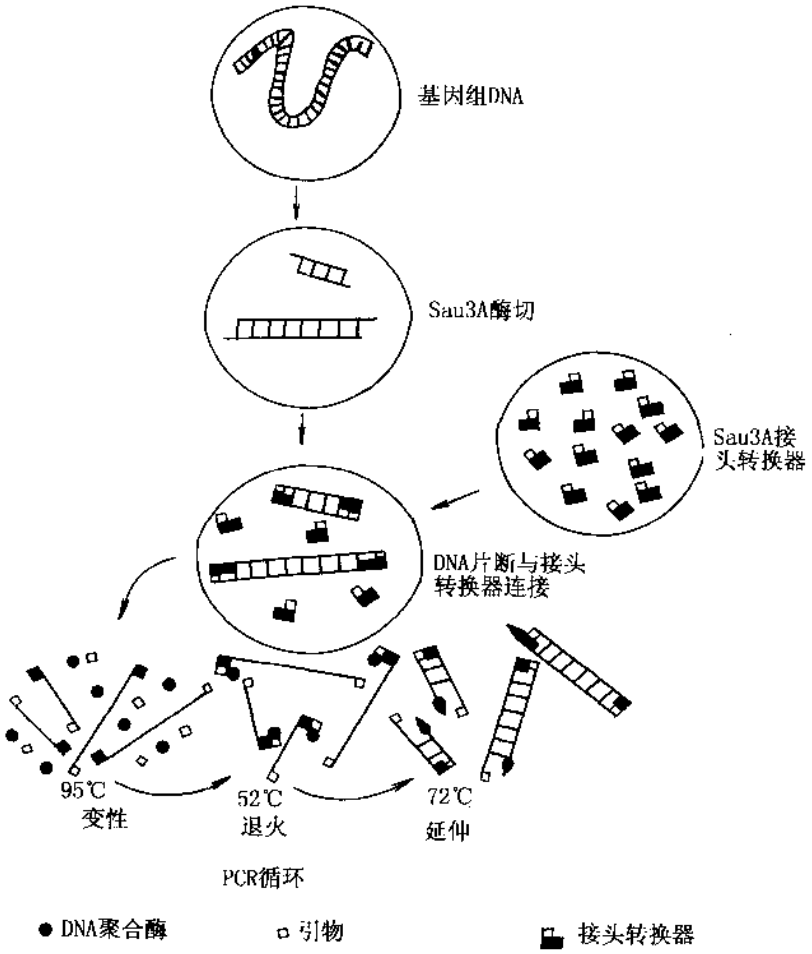


图 16 – 2　接头转换器 – PCR 示意图

（二）局限性

本方法扩增所需的模板 DNA 量较大，至少需 0.5 ng（相当于 50 个细胞）DNA，不能用于单个细胞 DNA 的全基因组扩增；在基因组中限制性酶切位点的随机分布，使得用于 PCR 扩增的酶切片段过长或过短，对于接下来的分析工作不利；另外整个操作程序比较复杂，要经过多次的酶切、连接、扩增、纯化等步骤，会导致部分基因组片段的丢失。所以此技术较少用于微量模板 DNA 的全基因组扩增。

（三）应用

此技术主要用于建立染色体特异性 DNA 文库。接头 – 转换器 – PCR 方法可以利用少量的流式细胞仪选择纯化的染色体 DNA，建立复杂的文库。通过这种方法扩增的 DNA 不会受到细菌或噬菌体的污染。

三、简并性寡核苷酸引物 - PCR 技术

(一)基本原理

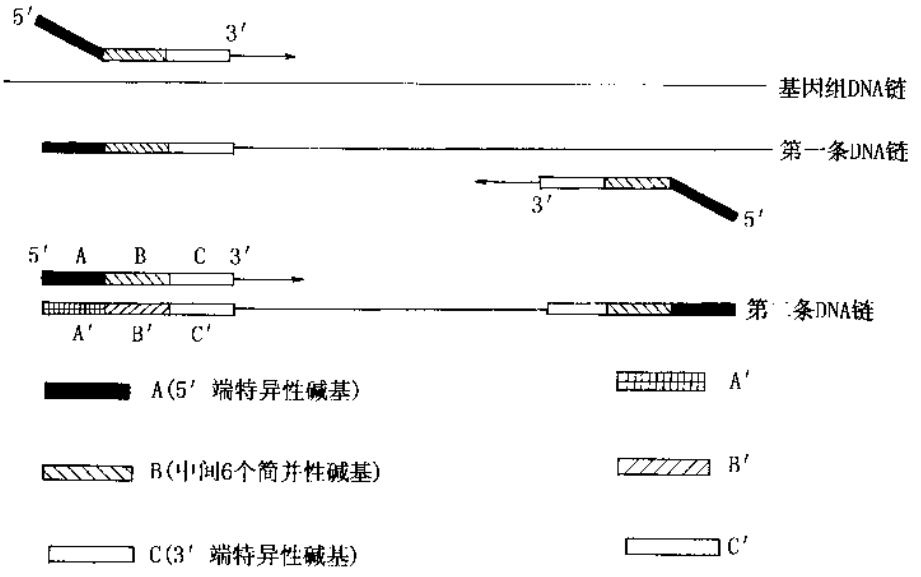
简并性寡核苷酸引物 - PCR (degenerated oligonucleotide primed - PCR, DOP - PCR)是利用氨基酸密码简并性的原理来设计引物进行全基因组 DNA 扩增的 PCR 技术。它具有简单、灵敏度及特异性高的特点,已广泛用于各种不同来源及种属的 DNA 扩增。

1. 引物设计　引物(1):6 - M 5′AAGTCGCGGCCGGNNNNNNATG3′,N = A,T,G,C,各种碱基的比例大概相近,3′端有 3 个特异性碱基,5′端有 1 个 *Not* Ⅰ识别序列。

引物(2):6 - MW 5′CCGACTCGAGNNNNNNATGTGG3′,N = A,T,G,C,3′端有 6 个特异性碱基,5′端有 1 个 *Xho* Ⅰ识别序列。

DOP - PCR 引物含有三部分:3′端有 6 个或 3 个特异性碱基是引物特异性的结合部位,中间是 6 个核苷酸的简并性序列,即 6 个核苷酸的随机序列,5′端含有限制性酶的识别序列,这样的引物在人类基因组 DNA 序列中很多位置可以找到结合序列,从而可获得全基因组序列的扩增。Telenius H 等(1992 年)实验结果表明,利用这 2 个引物扩增人基因组 DNA 都能得到预期的片段,但是 6 - MW 引物扩增的效率更高。后来人们的实验多采用 6 - MW 引物进行 DOP - PCR 扩增,并取得理想的实验结果。

2. PCR 循环特点　①第一步,前 2 ~ 8 个热循环为低严谨性扩增,即复性温度非常低(30 ℃),允许 3′端部分简并性序列参与起始复性。②第二步,其余循环为高严谨性扩增,即提高复性温度使引物的全长都进行复性(图 16 - 3)。



A′、B′、C′序列分别与 A、B、C 序列互补

图 16 - 3　DOP - PCR 循环示意图

(二)影响因素

1. 影响 DOP - PCR 扩增效率的 2 个基本因素　①开始阶段的低温复性,使得引物 3′端的特异性序列与靶序列结合以后,即可启动延伸步骤;②引物的简并性。引物中间部分 6 个简并性核苷酸序列在理论上可以有 4^6 个不同的引物序列。这类引物 3′端的特殊碱基序列决定了起始循环的低温复性。另外,

高严谨性热循环次数不同会影响全基因组扩增效率和基因组覆盖率(coverage)。Wells D 等(1999 年)实验分别采用 25 和 50 个高严谨性热循环,并命名为 DOP25、DOP50,发现 DOP50 的全基因组扩增效率和基因组覆盖率都比 DOP25 高,后者的机制尚待进一步确证。

2. DOP-PCR 扩增的产物量　在一定程度上决定于引物和 Taq DNA 聚合酶,因为是多位点的扩增,其引物和 DNA 聚合酶的用量要比单位点扩增时的需要量大得多。例如,一个典型的单位点扩增,开始时引物分子与靶位点的比率约为 4.4×10^8,而对于作全基因组扩增用的 6-MW 引物来说,此比率不到 300 000,其原因在于基因组中每隔 4 kb 就有一个引物结合序列。按普通 PCR 反应计算,假定每个循环扩增效率为 100%,10 个循环后所有的简并性引物将会显著减少,而相同数量引物作单位点 PCR 扩增时能持续 29 个循环。因而对于 DOP-PCR 来说,在一定范围内引物的量加倍,PCR 扩增产物的量也会加倍。另外在引物消耗完之前,DNA 聚合酶分子也将会限制反应的进行。如果 50 μl 的反应体系中加入 1.25 U 酶,普通单位点 PCR 扩增经过 21 个循环,反应将进入一个线性模式而不是指数模式。但在 DOP-PCR 体系下扩增至第二个循环时,酶量的减少已经限制了反应的进行。DOP-PCR 的实验表明,最大酶量需要达到 6.25 U/50 μl。应用不同的酶,由于其活性和(或)稳定性不同会导致扩增产量的差异。

DOP-PCR 方法没有种属特异性的限制,可用来扩增各种来源的 DNA。在起始热循环低温复性的情况下,DOP 引物的 3'端序列都带有一定的随机性,它是由 3 个或 6 个特异性碱基和部分简并性序列组成。如 6-M 引物 3'端固定的 3 个碱基,6-MW 引物固定的 6 个碱基,随后是简并性序列。这些短的碱基序列在基因组中能找到的结合位点较多,理论上每隔 4 kb 就会有一个 6 碱基的重复序列。这样在靶 DNA 序列上就有许多引物结合位点(priming sites),可同时进行多位点的扩增。3'端特异性引物序列复性的稳定性是通过其邻近的 6 个简并性序列来维持。

正常基因组 DNA 经 DOP-PCR 扩增,其产物片段大小一般为 300 bp 至 4 kb。而显微切割、石蜡包埋的组织抽提出的 DNA,其 DOP-PCR 扩增产物片段较小,一般是 100 bp 至 2 kb,表明 DNA 降解越多,扩增产物的片段越短。Hernould M 等(1997 年)报道低至 0.1pg 的显微切割的染色体 DNA 就可成功进行 DOP-PCR 扩增。随着基因芯片技术的发展,可以利用基因芯片技术进行 DOP-PCR 扩增。Cheng J 等(1998 年)和 Fortina P 等(2000 年)已成功利用硅-玻璃芯片进行 DOP-PCR 扩增。

(三)应用

1. 单个细胞基因组分析　将 DOP-PCR 技术与比较基因组杂交技术(comparative genomic hybridization, CGH)结合起来可以分析单个细胞中基因组的改变。CGH 是一种新的细胞遗传学方法,用于癌症遗传学研究,标准的 CGH 方法需要 1~2 μg 肿瘤组织的 DNA,而实际上很难得到,这时可在 CGH 之前利用 DOP-PCR 进行整个基因组扩增。DOP-PCR-CGH 方法只需 12.5 pg 的 DNA。

2. 法医学微量检材的个人认定、遗传连锁分析、遗传性疾病诊断　因为 DOP-PCR 能将 pg 数量级的模板扩增,使之成功用于 10 个微卫星标记的基因分型,并可得到清晰的条带。

3. 可用于酵母人工染色体(yeast artificial chromosomes, YACs)DNA 的扩增　YACs 广泛用于复杂基因组的物理图谱制作。现已有几种方法来提高纯化的 YAC DNA 量,如 *Alu*-PCR,接头-转换器 PCR,序列独立性扩增(sequence-independent amplification)。但这些方法相对麻烦,步骤较多,需要多次的酶切、连接等,或依赖于已知的种属特异性重复序列等。DOP-PCR 在扩增前不需要进一步纯化 DNA,适用于任何生物的 DNA 样本,可对 ng 数量级的 YAC DNA 作简单的扩增。

4. 建立染色体 DNA 文库　随着显微切割技术和 PCR 技术的发展,从显微解剖染色体 DNA 建立染色体文库有 2 种方法:① 直接克隆;② PCR 介导的克隆(PCR-mediated cloning)。后者根据引物的不同,可分为利用特异性引物的 PCR,或利用随机引物的 DOP-PCR。以 DOP-PCR 方法建立的 DNA 文库相对简单,特异性高。

四、引物延伸预扩增－PCR技术

(一)基本原理

引物延伸预扩增－PCR(primer－extension preamplification－PCR，PEP－PCR)技术是以15个碱基长的随机寡核苷酸为引物，通过热循环反应，能够使单个二倍体细胞基因组78%序列的拷贝数增加30倍以上，其产物可分为若干份作为模板，进行多位点PCR扩增或复合扩增。

1. 引物设计特点　引物延伸预扩增反应(PEP)是以15个碱基的随机寡核苷酸为引物，理论上可有$4^{15}(1\times10^{9})$个不同序列，即有4^{15}种引物。

2. PEP－PCR反应特点　它是低严谨性的PCR反应，退火和延伸温度低，退火时间和延伸时间加长，循环次数多达50次，整个PCR反应时间长达8 h。反应体系中有高浓度的引物和DNA聚合酶、微量的模板。

PEP扩增产物在琼脂糖凝胶电泳中表现为一范围较宽的瀑布状物，含有各种大小的DNA片段。PEP扩增产物于4 ℃保存，2个月内都可进行随后的特异性位点检测。一般取1/20～1/30的PEP反应产物就足以进行随后的多位点PCR扩增。

3. 改良PEP－PCR(improved－PEP－PCR，I－PEP－PCR)方法　为了提高单个细胞以及冰冻、福尔马林固定或石蜡包埋组织抽提的DNA全基因组扩增效率，Dietmaier W等(1999年)将PEP－PCR方法作了改进：一是利用3.6 U的Taq DNA聚合酶和Pwo DNA聚合酶混合液；另一是在55 ℃ 4 min延伸之后又增加68 ℃ 30 s延伸。增加这一延伸步骤，对于福尔马林固定组织的DNA扩增特别有效。Pwo DNA聚合酶是具有3′—→5′外切酶活性的高保真酶，它能够去除随机引物复性时3′端错配的核苷酸。由于当随机引物复性时，3′端存在错配的核苷酸可使Taq DNA聚合酶延伸效率降低，这种含Pwo DNA聚合酶的混合酶比单独Taq DNA聚合酶的延伸效率要高40%。实验表明，改良PEP－PCR扩增效率要明显高于原来的PEP－PCR和DOP－PCR，测序表明其正确扩增的DNA序列可超过4 kb。

(二)PEP反应的影响因素

1. 不同DNA聚合酶的影响

(1)利用Taq DNA聚合酶，PEP－PCR扩增产物一般为小片段。如Barrett MT等(1995年)只得到80～350 bp小片段的扩增产物，也有报道能得到800 bp的PCR扩增产物，但是超过1.0 kb的片段未见报道。

(2)利用Stoffel片段(Stoffel fragment)进行PEP反应。Stoffel片段是一个分子质量为61 ku、没有Taq DNA聚合酶N端289个氨基酸序列、高度热稳定的重组DNA聚合酶。它没有核酸外切酶活性。其加工性能较低(low processivity)，PEP－PCR扩增产物一般也是短片段。

(3)单独使用Pfu DNA聚合酶进行PEP反应时，其产物可以进行大量的微卫星DNA的基因分型。而使用Taq DNA聚合酶和Stoffel片段的PEP－PCR产物能获得的微卫星DNA基因分型数量则较少。因为这2个酶的加工合成能力较低，长片段不能有效扩增。

(4)使用Taq DNA聚合酶和Pfu DNA聚合酶混合液，可以提高PCR扩增产物的保真性和产量。因为Taq DNA聚合酶在延伸过程中有可能引起AT－GC碱基转换，而导致全基因组扩增错误，加入Pfu DNA聚合酶后可以提高Taq DNA聚合酶的加工性能，提高保真性和延伸效率，同时可以得到长片段的扩增产物。利用不同比例的Taq DNA聚合酶和Pfu DNA聚合酶，可以从λ噬菌体DNA模板扩增大量的长片段DNA。在Casas等(1996年)的实验中，60 μl的PEP反应体系，Taq DNA聚合酶的量恒定，再加入不同量的Pfu DNA聚合酶，使2种酶的比例分别为1∶1，2∶1，4∶1，8∶1和16∶1倍，Pfu DNA聚合酶相应的浓度为5 U，2.5 U，1.25 U，0.625 U，0.312 5 U，结果长片段DNA的扩增效率和产量没有变化。60 μl的PEP反应体系中Taq DNA聚合酶和Pfu DNA聚合酶两者之比最大可达到99∶1，说明少量Pfu

DAN 聚合酶的存在对于长片段的扩增是非常重要的。另外在此实验中，利用 Taq DNA 聚合酶和 Pfu DNA 聚合酶，退火和延伸时间只需 9 min 就可以成功扩增长片段的基因组 DNA，而不需长时间的退火和延伸。

(5) Dietmaier W 等(1999 年)利用 3.6 U 的 Taq DNA 聚合酶和 Pwo 聚合酶混合液，不仅可以提高扩增效率，而且可以正确扩增超过 4 kb 的 DNA 片断。

2. 设立阴性对照组　利用随机引物进行 PCR 扩增有时会形成引物二聚体。因而 PEP - PCR 反应必须设立阴性对照来识别假阴性结果。

3. 起始模板量和引物量的影响　赵庆国等(2000 年)利用 PEP - PCR 方法成功地扩增 Y 染色体长臂重复序列 DYZ1 片段和 X 染色体上 Ⅷ因子序列。研究中发现，引物浓度到了一定水平以后，随着起始模板量的增加，PEP 反应产物的拷贝数提高呈平台趋势。其原因可能与随机引物相对于模板量的比例减少，消耗殆尽有关。这同时也解释了 Zhang 等(1992 年)使用相对于模板较充沛的引物，可使得单细胞基因组拷贝数提高 30 倍以上。由于随机引物的特性，本技术不会出现某一片段的优势扩增。

4. 控制污染　在实践中控制污染对于 PEP 扩增整个基因组及对扩增产物的可靠性是至关重要的。

(三)局限性

本技术最大缺点是整个反应程序时间过长，总反应时间达 8 h。

Xu K 等(1993 年)利用 3 种不同的 PEP - PCR 反应策略，对单个卵细胞进行人 X 染色体和囊性纤维化基因(cystic fibrosis gene)的特异性序列分析。在反应体系不变的情况下，若将反应时间减至 5 h 45 min，效率明显降低；但若将反应时间减至 4 h 40 min，同时将反应体系从 60 μl 减至 40 μl，则反应效率没有变化，这说明 PEP 反应时间是可以缩短的。Sermon K 等(1996 年)成功应用短时间的 PEP - PCR 策略进行单个卵细胞的 DNA 全基因组扩增来研究人类遗传性疾病。

(四)应用

1. 进行单细胞的基因分型　将单个精子或卵细胞的全基因组 DNA 扩增以后，则可进行需要的基因分型研究。人类、鼠、牛等多种生物均可进行。保守估计 60 μl 的单个精子细胞 PEP 反应产物，至少可进行 24 次的 DNA 多态性分析。这种技术对阐明某些物种繁殖能力低下的原因特别有用。

用此技术还可以在体外受精后作植入前的基因诊断，如检测一些遗传性疾病的多位点突变，如囊性纤维化和假肥大性肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy，DMD)等遗传性疾病。

2. 法医学应用　在法医实践中，许多原因可引起 DNA 高度降解，如高度腐败、陈旧的检材，对这些样本的基因分型至今仍是法医分子生物学工作者面临的难题。目前在法庭科学文献中报道的单个基因座 PCR 分析的灵敏度为 0.5 ng(相当于 50 个细胞)左右。但在实际检案中，如果不设法将基因组 DNA 扩增，则甚至含有 0.5 ng 以上的 DNA 标本也很难成功地进行基因分型，使很多案件难以进行个人认定。郑秀芬等(2000 年)报道的 20 个基因座分析、Wells D 等人(1999 年)分析的 10 个基因座和 Satoh K 等人(1998 年)分析的 9 个基因座，结果均表明，PEP - PCR 几乎均能应用于目前法医学常用基因座分型。不论是 VNTR 还是 STR，也不论是常染色体 DNA，还是性染色体 DNA，PEP 均能扩增，而且分型结果准确。郑秀芬等实验的测定结果表明，少至 1 ng 的模板 DNA 通过 PEP - PCR 方法也可进行 10 个基因座的复合扩增，同时 Zuhlke C 等(1997 年)也成功地应用 PEP - PCR 分析从冷冻和福尔马林固定组织提取的 DNA。Dietmaier W 等(1999 年)利用改良的 PEP - PCR 方法可提高单细胞及福尔马林固定、石蜡包埋等降解组织 DNA 的扩增效率，使之能用于法医学检案。

五、标签随机引物 - PCR 技术

标签随机引物 - PCR(tagged random primer - PCR，T - PCR)是利用标记的随机引物进行 2 步 PCR 扩增。

其引物设计特点为:3'端是9～15个碱基的随机寡核苷酸序列,5'端是标记的特定的17个碱基的核苷酸序列。

采用2步PCR反应策略。第一步有2次或2次以上PCR循环,第一次热循环是利用3'端9～15个碱基的随机寡核苷酸序列作为引物与靶序列进行复性并延伸,复性的条件根据随机引物的序列决定。引物浓度根据模板DNA浓度调节,例如,含有9个碱基的随机引物的复性温度为30 ℃(1 min);然后温度升至40 ℃(1 min);72 ℃延伸,2 min。第二次热循环后PCR产物DNA序列两端都含有随机引物序列。未与靶序列复性的引物或可能形成的引物二聚体通过旋转柱凝胶(生物凝胶P100)过滤去除。第二步PCR循环,则利用与引物的5'端17个碱基的核苷酸序列互补的序列作为引物,扩增第一步产生的DNA分子。第二步PCR循环,引物浓度增加至终浓度。

引物与模板DNA的摩尔浓度比(primer－DNA mass ratios)影响本技术扩增产物的产量和片段大小的分布。一般适合标签随机引物－PCR扩增的引物与模板DNA摩尔浓度比范围比较广,随机引物与DNA的摩尔浓度比在30～50之间最适合。如果引物量太低,可以导致扩增产物的产量显著减少,但是扩增产物片段的平均长度增加了。一般引物浓度越高,扩增产物片段越短。

标签随机引物－PCR的敏感性通过DNA量的减少来检测。10^{-12}g DNA(相当于两拷贝的人类21号染色体)通过35个PCR循环,经琼脂糖凝胶电泳溴乙淀染色可以观察到扩增结果。增加PCR循环次数可以提高灵敏度,但是过多的循环次数使非特异性产物量增加。

标签随机引物－PCR进行全基因组扩增时将随机引物整合入DNA序列中,接着用特异性引物进行PCR扩增。扩增产物以指数级增加,并有高度的特异性。Wells D等(1999年)在标签随机引物－PCR扩增产物琼脂糖凝胶电泳中发现一些清晰的条带,表明此技术也不是完全随机扩增的。小到几百个碱基,大到超过1.5 kb的DNA片段,都能通过这种方法扩增。用杂交方法检测其可靠性发现,扩增产物的杂交与原来基因组DNA的杂交结果是一致的。Wells D等(1999年)发现标签随机引物－PCR的扩增效率在不同位点的差别很大,在41%～95%之间,但是它可以通过重新设计引物来改善低效扩增。标签随机引物－PCR方法能用于扩增任何种属的DNA分子。此方法的高灵敏度使其能用于单细胞全基因组扩增。对于经过各种电泳技术纯化的DNA或流式细胞仪分选的DNA样品同样可以扩增。

综上所述,通过以上方法都可以有效进行全基因组扩增,但各种方法的扩增效率及基因组覆盖率并不相同。Wells D等(1999年)比较了4种全基因组扩增方法,即DOP－PCR、T－PCR、PEP－PCR和*Alu*－PCR。其中DOP－PCR又根据第二步热循环次数25次和50次的不同,分别称之为DOP25、DOP50。通过10个不同多态性位点的扩增发现不同方法扩增的基因组覆盖率不同,其中PEP－PCR和DOP50这2种方法的基因组覆盖率最高,分别为91%和89%,而*Alu*－PCR的基因组覆盖率最低,只有59%。

利用这几种方法进行全基因组扩增,常常会出现一些串联重复序列的等位基因片段长度增加或减少约一个重复单位的长度,有时甚至会出现几个重复单位的缺失或插入。另外,还会出现等位基因漏扩(allele drop－out, ADO)及优势扩增现象。所有这些,都要在分析结果作出判断时加以密切注意。

第二节　特殊的DNA提取技术

一、Luminol处理过的血痕DNA抽提

犯罪人员在作案以后,为了隐匿犯罪痕迹,常常会冲洗犯罪现场。因此,法医检案中常遇到肉眼看不见的潜在性血痕。对于此类物证常可以用luminol去作预试验,看看可疑痕迹是否为血痕。这是由于

血液干燥过程中，红细胞破裂，释放出血红素（heme group）基团，使血痕比新鲜血液具有更强的氧化能力，能使 luminol 产生亮度强、时间长的化学发光（chemiluminescence）作用。这一点使得 luminol 特别适宜用作现场调查。但是，用 luminol 处理后的血痕，不利于再用血清学方法对其进行进一步的抗原检测，因而使能用作个人识别的检材量减少。不过，在 DNA 分析技术已趋成熟的今天，这样的血痕还能不能再利用呢？

Hochmeister MN 等（1991 年）调查过，认为 luminol 和其他用于血痕的预试验（presumptive tests）对 RFLP 技术没有不良影响，进行过预试验的血痕中可以抽提出大分子 DNA。Manna AD 等进行了研究，发现这些处理过的血痕完全可以抽提足够的 DNA，进行下一步的 PCR 分型。这样可减少本来就十分微量的物证的损失，提高微量血痕的个体识别检出率。

在法医实践中，现场的血痕往往很少，肉眼看不见，这时都需要用 luminol 进行预试验。为充分利用检材，Manna AD 等（2000 年）的方法可作为参考：先用 luminol 试剂（0.1 g luminol，0.7 g 过硼酸钠，5.0 g 碳酸钠制成 100 ml 溶液）处理血痕，采用 Alabama 法庭科学系（Alabama Department of Forensic Sciences）（1997 年）研制的 Puritan™海绵尖拭子（sponge tip swab）来提取血痕。用有机溶剂法抽提 DNA。这些 DNA 模板用于 PCR 作 STR 分型效果很好。

二、碱裂解法抽提 DNA

DNA 抽提是法医 DNA 分析中关键的一步。经典的 DNA 抽提是用酚/氯仿方法。所得到的 DNA 的优点是纯度高，适用于各种 DNA 分析，效果都很好。但此方法步骤繁多，耗时较长，还有最突出的缺点就是此方法的操作环节太多，使 DNA 回收率低。一些进口的 DNA 抽提试剂盒尽管在步骤和耗时方面有了改进，但是效果仍然不够理想。

这里介绍一种既方便快速，又能尽量减少 DNA 耗损的 DNA 抽提方法。经过我们实验室半年多的实践，说明此方法在抽提 DNA 的纯度和省时方面有其独特的优点。

碱裂解法提取生物检材 DNA 的步骤如下。

（一）全血 DNA 提取

1. 20 μl 抗凝血液于 0.5 ml Eppendorf 管中，加 100 μl 消毒双蒸水，混匀，室温放置 1 min。8 000 rpm离心 7 min，去上清，加 20 μl 0.2 mmol/L NaOH 溶液，30 ℃孵化 5 min，混匀。

2. 加 180 μl 0.04 mmol/L Tris－HCl（pH 3.2）至终 pH 为 7.5～8，8 000 rpm 离心 7 min，上清液作为 PCR 的模板。

此方法前后共用 10 min 即可完成 DNA 的抽提工作。

（二）血痕 DNA 提取

1. 剪取血纱约 2 mm×2mm，置于 0.5 ml 离心管中，加 400 μl 消毒双蒸水，8 000 rpm 离心 7 min，去上清，加 20μl 0.2 mmol/L NaOH 溶液，80 ℃孵化 10 min，混匀。

2. 加 180 μl 0.04 mmol/L Tris－HCl（pH 3.2），8 000 rpm 离心 7 min，上清液作为 PCR 的模板。

其他类型的检材如精斑、毛发、唾液斑等的 DNA 提取方法与血痕相近似。

参 考 文 献

1 Nelson DL, Ledbetter SA, Corbo L, *et al*. *Alu* polymerase chain reaction: A method for rapid isolation human－specific sequences from complex DNA sources. Proc Nat Acad Sci USA, 1989, 86(17): 6 686～6 690

2 Sinnett D, Deragon JM, Simard LR, *et al*. Alumorphs – human DNA polymorphims detected by polymerase chain reaction using *Alu* – specific primers. Genomics, 1990, 7(3): 331 ~ 334

3 Ledbetter SA, Nelson DL, Warren ST, *et al*. Rapid isolation of DNA probes within specific chromosome regions by interspersed repetitive sequence polymerase chain reaction. Genomics, 1990, 6(3): 475 ~ 481

4 Davies W, Hoyheim B, Chaput B, *et al*. Characterization of microsatellites from flow – sorted procine chromosome 13. Mammalian Genome, 1994, 5(11): 707 ~ 711

5 De Souza AP, Allamand V, Richard I, *et al*. Targeted development of microsatellite markers from inter – *Alu* amplification of YAC clones. Genomics, 1994, 19(2): 391 ~ 393

6 Vooijs M, Yu LC, Tkachuk D, *et al*. Libraries for each human chromosome, constructed from sorter – enriched chromosomes by using linker – adaptor PCR. Am J Hum Genet, 1993, 52(3): 586 ~ 597

7 Telenius H, Carter NP, Bebb CE, *et al*. Degenerate oligonucleotide – primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. Genomics, 1992, 13(3): 718 ~ 725

8 Zhu T, Shi J, Funke RP, *et al*. Characterization and application of soybean YACs to molecular cytogenetics. Mol Gen Genet, 1996, 252(4): 483 ~ 488

9 Huang Q, Schantz SP, Rao PH, *et al*. Improving degenerate oligonucleotide primed PCR – comparative genomic hybridization for analysis of DNA copy number changes in tumors. Genes, Chromosomes & Cancer, 2000, 28(4): 395 ~ 403

10 Cheng J, Waters LC, Fortine P, *et al*. Degenerate oligonucleotide primed – polymerase chain reaction and capillary electrophoretic analysis of human DNA on microchip – based devices. Anal – Biochem, 1998, 257(2): 101 ~ 106

11 Fortina P, Cheng J, Kricka LJ, *et al*. DOP – PCR amplification of whole genomic DNA and microchip – based capillary electrophoresis. 2000 International Forum on Biochip Technologies, Technical Digest. Beijing, 2000: 2 ~ 13

12 Hernould M, Glimelius K, Veuskens J, *et al*. Microdissection and amplification of coding sequences from a chromosome fragment restoring male fertility in alloplasmic male – sterile tobacco. Plant J, 1997, 12(3): 703 ~ 709

13 Cheung VG, Nelson SF. Whole genome amplification using a degenerate oligonucleotide primer allows hundreds of genotypes to be performed on less than one nanogram of genomic DNA. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(25): 14 676 ~ 14 679

14 Breen M, Thomas R, Binns MM, *et al*. Reciprocal chromosome painting reveals detailed regions of conserved synteny between the karyotypes of the domestic dog (Canis familiaris) and human. Genomics, 1999, 61(2): 145 ~ 155

15 Dietmaier W, Hartmann A, Wallinger S, *et al*. Multiple mutation analyses in single tumor cells with improved whole genome amplification. Am J Pathol, 1999, 154 (1): 83 ~ 95

16 Casas E, Kirkpatrick BW. Evaluation of different amplification protocols for use in primer – extension preamplification. Biotechniques, 1996, 20(2): 219 ~ 225

17 赵庆国，张郁，李丽君，等. 应用引物延伸预扩增提高微量 DNA 拷贝数. 生物技术通讯, 2000, 11(1): 23 ~ 25

18 Xu K, Tang Y, Grifo JA, *et al*. Primer extension preamplification for detection of multiple genetic loci from single human blastomeres. Hum Reprod, 1993, 8(12): 2 206 ~ 2 210

19 Barrett MT, Reid BJ, Joslyn G. Genotypic analysis of multiple loci in somatic cells by whole genome

amplification. Nucleic Acids Res, 1995, 23(17): 3 488 ~ 3 492

20 Sermon K, Lissens W, Joris H, *et al*. Adaption of the primer extension preamplification (PEP) reaction for preimplantation diagnosis: single blastomere analysis using short PEP protocols. Mol Hum Report, 1996, 2(3): 209 ~ 212

21 Zuhlke C, Helfenbroich Y, Schaaff F, *et al*. CAG repeat analyses in frozen and formalin - fixed tissues following primer extension preamplification for evaluation mitotic instability of expanded SCA1 alleles. Hum Genet, 1997, 100(3 ~ 4): 339 ~ 344

22 郑秀芬, 叶健, 吉冈尚文, 等. PEP - PCR 法及其在法医学中应用的可行性研究. 中国法医学杂志, 2000, 15(1): 18 ~ 21

23 Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, *et al*. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genomic hybridization. Nucleic Acids Res, 1999, 27(4): 1 214 ~ 1 218

24 Satoh K, Takahashi K, Itoh Y, *et al*. Typing of DNA using the primer extension preamplification (PEP) method studies of reliability of typing and detection limits. Nippon Hoigaku Zasshi, 1998, 52(3): 184 ~ 190

25 Grothues D, Cantor CR, Simth CL. PCR amplification of megabase DNA with tagged random primers (T - PCR). Nucleic Acids Res, 1993, 21(5): 1 321 ~ 1 322

26 Manna AD, Montpetit S. A novel approach to obtaining reliable PCR results from luminol treated bloodstains. J Forensic Sci, 2000, 45(4): 886 ~ 890

第十七章 混合生物检材的个体识别

吕德坚 伍新尧

第一节 概述

混合生物检材系指由多个体的成分组成的混合样本，在法医物证检验中很常见，不仅有多人组成的混合物，还有可能是人与动物或人与微生物成分组成的混合物。

在下列情况下应考虑混合检材的可能性：①性犯罪案件中提取的各种检材，包括阴道拭子、内裤、卫生纸、床单、外生殖器的拭子及其他各类物品，这类检材多含有精子及阴道上皮细胞，属男、女个体成分的混合物；②多人受伤出血的现场血迹，当事人身上或衣物上的血痕；③提取咬痕的拭子含有咬者的口腔上皮细胞和被咬者的皮肤细胞；④输血后短时间内抽取的血液，受伤后出血过多，或因其他疾病，送入医院输血抢救或治疗，血液中可能含有多个人的成分，需要1个月后才能采血，或者取口腔拭子代替血标本；⑤指甲垢，含有本人和被抓者的细胞；⑥血衣有另一个人的汗液污染；⑦指纹，有报道指纹可检出DNA，一些器皿上有多人使用过，其上可有多人的指纹；⑧经常与动物接触的人，其身上或衣物上提取血痕或体液斑可能含有动物血或动物的脱落细胞；⑨造血干细胞移植后，骨髓移植、脐血移植后，受者的血液可有与供者相同的遗传标记；⑩检材发生变质，霉变，腐败，受微生物的污染；⑪检材提取过程中，检材处理不当，不同的检材间相互污染。

第二节 混合生物检材的提取

混合检材的提取与一般物证检材提取相似，但是在性侵犯的案件，除了提取现场的卫生纸、避孕套、床单等物品外，要从受害人身上提取的样本有阴道拭子、血液、口腔拭子或唾液斑、脱落的阴毛、头发、外生殖器擦拭物、甲垢、内裤或衣服、人体分泌物等。从嫌疑人身上要提取相应的血液、唾液斑、阴毛和头发、内裤等。

第三节　混合生物检材的确证

不同的生物学检材因其组成不一样，可按不同检材的确证试验方法确定检材中的成分，如唾液中可检出淀粉酶、口腔上皮细胞和腮腺蛋白等，阴道液斑可检出阴道上皮细胞，鼻涕可检见大量的白细胞等。

mRNA 极易发生降解，但有报道，可用 RT－PCR（反转录 PCR）的方法检测子宫内膜上皮细胞特异的 mRNA，以鉴定混合血中是否含有月经血。实验还发现保存 6 个月的月经血痕仍可用此法检出。

FISH（fluorescence in situ hybridization）技术不仅可以检验混合斑是否有男性细胞，也可以检验女性的细胞。提取性交后阴茎上残留物的擦拭子，进行涂片，用带不同颜色荧光的 X、Y 探针检测，在荧光显微镜下，观察那些 2 种荧光信号不发生重叠的细胞，若只见 X 探针的颜色，可以确定为女性细胞，说明有性交发生不久。该法灵敏，特异性好。

但是有些检材因量太少，是无法确认其组成的，只能直接进行 PCR－STR 的分型，以确定其来源。

第四节　精液与阴道液混合斑的确证

混合斑最常见的是精液与阴道液的混合，检验多数是要确定是否含有精斑，方法大致有以下几种。

1. 肉眼观察　精斑在布料的基质上质感较硬，呈淡黄色。在大范围内用肉眼方法搜寻发现精斑很重要。紫外线下观察的方法，因受很多化学染料等物质本身也发出荧光的影响，应用价值不大。

2. 预试验　用化学试剂检测精液中含量高的物质，最常用的是酸性磷酸酶试验和锌的检出。酸性磷酸酶试验可以检测长达 25 年的精斑，阳性说明可能是精斑，但也可以是阴道液、尿液、避孕药的影响，出现假的阳性。阴性结果可能是因酶已被破坏，不能排除精斑的可能性，还要做确证试验。

3. 精斑的确证试验　传统用抗人精血清和抗人前列腺特异性抗原（PSA，又称 P^{30}）抗体，结合免疫沉淀，免疫扩散，ELISA 等方法检测精液中相应的抗原，这些方法需时较长。最近报道的一种称为免疫色谱图的技术，用一种专门检测 PSA 的膜，根据与检材浸液作用后颜色的变化来判定是否有 PSA。它的灵敏度可与 ELISA 媲美，具有显示快速、方便的优点，提取 DNA 过程中消化精子前的上清也可以用来检验，不耗损 DNA。30 年之久的精斑仍可检出阳性结果。但是部分男子的尿液也呈现阳性，可能系尿中含有前列腺液的缘故。

精子的检出仍是最可靠的精斑确证试验。常用染色方法有 HE 染色，酸性复红美蓝染色法。精子形态虽特别，但也必须与真菌或其他微生物作仔细的鉴别。陈旧检材会出现染色不良。精子受破坏，精子量很少时，均易发生漏检，须特别注意。无精子者或输精管结扎者无法检出精子，因此检不出精子不能否定精斑的存在。

提取混合检材的 DNA，检测 ZFX/ZFY 或 Amelogenin 等性别判定位点，可以帮助判别混合斑是否有男性成分，但它不能确认精斑的存在。

第五节　混合斑的血型检验

尽管目前 DNA 分析技术已逐渐广泛应用，但是血型检测仍有价值。特别是对一些无法提取 DNA 的体液混合斑，只能采用免疫学的方法检测混合斑中的抗原多态性。

传统的方法利用中和试验，检测受害人、嫌疑人的唾液和混合斑的分泌状态和血型物质，通过对比推测可以排除嫌疑人。此法所需的检材量较大，灵敏度差。实际上分泌型和非分泌型只是体液中 ABH 物质量的差异，精液与唾液中的 ABH 物质也并不完全相等，难免发生误判。ELISA 或斑点免疫法可大大提高灵敏度，甚至可以检出非分泌型人分泌液中的血型物质，也提高了可靠性。

精液中的一些成分，不仅具有精液的特异性，而且带有 ABH 抗原物质。如精液 γ－谷氨酰转肽酶（γ－glutamyl transpeptidase，γ－GTP），其上有 ABH 抗原的决定簇，将其作为抗原制备的单克隆抗体，除对精液起特异反应外，同时也对 γ－GTP 的 ABH 物质有特异性反应，在检测含有精液的混合斑中，可以同时确定有精斑并检出精斑的血型。

日本学者 Yasuda T 等人（1992 年）发现一种具有多态性的酶：DNase I。该酶存在于血清、唾液、精液、汗液、尿液、阴道液等各种体液中，并对各种不同的环境因素有一定的抵抗力，可用等电聚焦电泳检测。在混合斑检验中有一定的应用价值。

在混合血痕方面，Bunai 等（1999 年）先用胶纸带的粘面提取刀片或木板上的血痕，再用另一胶纸带贴在血痕的另一面，血痕被夹在两片胶纸带之间。然后按常规的免疫组化的方法，检测红细胞 A、B 和 H 抗原。结果发现提取的血痕是分层的，若各层之间的血型不相同，即可检出混合血痕的血型，而且根据各个层面的血型可判断黏附于刀或木板上的血型的顺序，对案件的重建有很大的帮助。

第六节 混合生物检材的 DNA 检验

各种体液斑中，包括无精子的精液斑，大多数都会不同程度地含有数量不等的有核细胞，这些有核细胞可以提取 DNA 进行 DNA 的分型。目前，对各种法医生物学检材的 DNA 检验，主要是用 PCR 方法扩增、电泳检测 STR（short tandem repeats）的扩增片段长度多态性（AFLP）。因此，目前对混合斑的检验也是以 STR 分型为主。

混合斑检验一直是法医学上的难题，其难点在于多个个体或多种组织的成分混在一起，难以判断结果中哪一种表现型或基因型是来自于哪一个个体。因此，法医学上一直试图将各种不同的成分相互分离出来进行独立检验，但是除了较容易分离精子和其他体细胞的 DNA 外，其他各种不同类型体细胞混合物的 DNA，还是无法相互分离开来。因此，这里主要介绍精子 DNA 的提取和检验。

一、精子 DNA 的提取

1. 二步消化法　精子的细胞表面蛋白含有大量的二硫键，可以抵抗去垢剂 SDS 和蛋白酶 K 的消化，而其他组织的细胞膜则可被这 2 种物质所消化，因此，对含有精斑的混合斑痕可先用 SDS 和蛋白酶 K 消化一定的时间后，离心去上清，精子留在沉淀物中，沉淀物中加入含 DTT（二硫苏糖醇）、SDS 和蛋白酶 K 的消化液，精子在 DTT 的作用下二硫键被打断，因而被 SDS 和蛋白酶 K 消化，从而释放出精子 DNA。这就是通常所说的二步差异消化（two－step differential lysis，preferential lysis）。

理论上，对精子和阴道上皮细胞的混合斑，二步法可完全除去阴道上皮细胞的 DNA，但在实际上当混合斑中有大量的阴道上皮细胞存在时，往往分离不彻底。在二步法中第一步先用蛋白酶 K 和 SDS 消化阴道上皮细胞，若消化时间过短、试剂的浓度过低或孵育温度过低，可致部分阴道上皮细胞残留，相反，则可能消化掉一部分精子，导致部分精子 DNA 的损失。通常第一步消化是在 37 ℃中作用 2～3 h，为了更有效地去除阴道上皮细胞的 DNA，有的作者试验在 70 ℃中消化混合斑检材，发现精子头仍能完整保留下来。另有作者为了精子不被消化，采用了较温和的消化方法，甚至不用蛋白酶 K。因此，在实际应用中，有必要先进行精子染色，镜下观察精子和阴道上皮细胞的比例，对第一步消化的时间、温度、试剂的浓度做出适当的调整。

2. 分离精子和阴道上皮细胞的物理方法　Chen 等人（1998 年）用孔径为 5～10 μm 的尼龙筛（Nylon mesh）过滤分离精子和阴道上皮细胞。理论认为小而呈椭圆形的精子可以通过这种筛，大而扁的阴道上皮细胞则无法通过。但显微镜下检查和 AFLP 分析表明只有 70% 精子可以滤过，且有 1%～2% 的完整的上皮细胞和部分发生自溶的上皮细胞也能通过尼龙筛。

3. 流式细胞仪进行荧光激活细胞分类　精子和阴道上皮细胞在染色体倍体性、HLA－I类抗原、CD45抗原表达等方面有差异，因此，可利用流式细胞仪进行荧光激活细胞分类(fluorescence－activated cell sorting)，分离精子与阴道上皮细胞，然后再分别提取DNA进行复合扩增，其效果优于二步法。这或许是将来分离不同个体的组织细胞的发展方向。

在经过二步法的第一步或其他方法获得精子后，要对精子进行DNA的提取。方法有酚/氯仿法和Chelex－100法，一般均需要使用DTT和蛋白酶K消化。有实验表明，少数情况下，不同方法提取的DNA，PCR的效果有所差异，因此，对PCR条件要进行优化。

二、混合斑DNA的纯化和浓缩

从各种混合斑痕中所得的DNA，含有检材基质中的各种离子、染料以及各种杂质，血痕含有变性的血红素，还有各种蛋白质和色素，这些物质均对PCR有很强的干扰作用，必须对DNA进行纯化。常用的纯化方法有乙醇沉淀法，Chelex－100法，Cetricon－100法，Microcon－100法，硅珠法，磁珠法，硫丙基琼脂糖6B珠(Thiopropyl Sepharose 6B beads)法，QIAamp柱法。这些方法都可以不同程度地去除金属离子、蛋白质、有机物、血红素、血卟啉以及降解的低分子质量的DNA，提高PCR扩增的效果。

三、DNA的定量

DNA模板的量对PCR扩增，尤其是复合扩增的效率，有明显的影响。过去多用紫外分光光度计测定，需用的样本DNA量较大，而且操作较复杂，限制了在微量的法医生物学检材的应用。最近有报道，只需3 μl样本量就可以测得结果的仪器。目前，较多的实验室采用半定量方法，如PE公司的Quanti Blot膜，只需把待测样点在膜上，根据反应的颜色深浅或反应速度，估计DNA模板量，效果较满意。

四、PCR条件的优化

与单一个体DNA的PCR扩增相比，扩增混合检材DNA的要求更严格，否则会对实验结果的影响很大。在正式检案之前，必须先进行一系列的预试验，确定最佳的条件。需要优化的参数与单一个体的DNA扩增相似，但要注意到混合斑检材基质的特殊性。从不同部位取材，设置阴性和阳性对照是必需的。用不同个体不同比例的DNA混合后，分别检测STR或其他DNA标记，选择能对不同比例混合的DNA产生稳定、清晰、灵敏度高的分型效果好的PCR条件，作为PCR反应的最佳条件。

五、电泳和分型

在用聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染法进行STR分型时，无论是采用变性或非变性胶，或是不连续电泳系统，均要求结果条带清晰，背景浅。在用荧光标记和DNA自动测序仪分型时，对Gene Scan和Genotyper软件的参数，需根据产物的荧光强度或噪音信号作适当的设置，以去除干扰的杂峰，使结果可靠。

第七节　混合斑 DNA 检验结果的分析

一、影响混合斑 DNA 分型结果的因素

混合检材 DNA 分型结果的分析是目前 DNA 分型中的一个难点和研究热点。在分析过程中要首先考虑到下列因素的影响。

1. 模板 DNA 的纯度　PCR 的 DNA 模板液中含有检材基质、蛋白质、组织腐败后释放出来的各种产物，均可抑制 PCR 反应或导致 PCR 产物电泳分型中出现非特异带。

2. 模板 DNA 的量　PCR 体系中 DNA 模板过多，会致引物与模板之间发生不完全配对，扩增产物长度不一。当串联重复序列被扩增时，在不同的重复序列产物之间，一起变性后复性，可产生非同源序列之间的复性，形成所谓的杂合二聚体(heterodimer)，出现非特异带。

DNA 模板量过少，影子带或其他非特异带会较多，在一些指纹、皮屑和汗液的混合斑等极微量检材的检验中易于出现这些现象，如图 17－1 所示，值得注意。

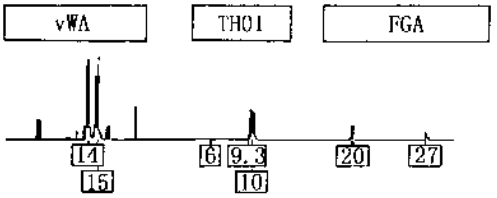


图 17－1　低拷贝数 DNA 图谱

可见有非特异的杂峰。DNA 模板来自一个酒瓶上的指纹

3. DNA 降解　检材中降解的 DNA，它只作为小片段模板而起作用。受紫外线照射损伤的 DNA，会影响复制过程中的延伸。大量的不同长度的降解 DNA 片段还会阻碍引物的复性。最终在电泳图谱中形成涂布状，或出现非特异的扩增产物(图 17－2)。

4. 精子与阴道上皮细胞 DNA 分离的程度　在扩增多个个体混合的 DNA 样本时，若各个个体的 DNA 含量不等，由于竞争引物，PCR 过程中最初的数个循环，引物优先与含量高的 DNA 模板退火而扩增，PCR 产物的指数增长使得后继的循环中这种优先扩增进一步加剧，从而导致混合 DNA 中含量高的模板得以优先扩增，而含量低的模板则不被扩增或扩增的效率很低，这种现象被称为优势扩增(preferential amplification)。若混合斑中阴道上皮细胞的 DNA 去除不彻底，甚至多于精子的 DNA，则可能出现精子 DNA 无法扩增的现象。

5. 检材受污染　虽然不少 STR 位点具有人的种属特异性，但亦有部分 STR 位点同时存在于某些动物中。检材中若有动物血或微生物的 DNA 污染，可以干扰 PCR 的反应，使扩增效率降低或者出现非人特异的扩增产物。

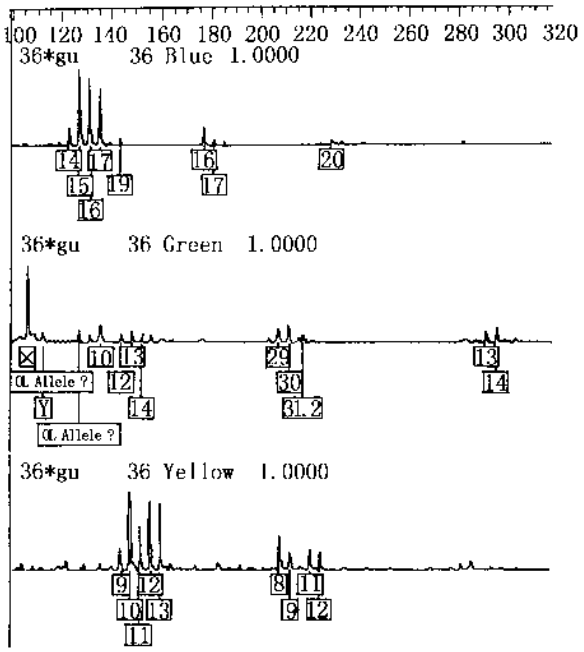


图 17－2 一例水中尸体的骨骼 DNA 检验结果(使用 Profiler Plus Kit)

尸体已高度腐败，图中可见 Ladder 样的图谱，无法确定该检材的基因型

二、混合斑常染色体 DNA 的检验结果分析

混合斑检材在作 DNA 分析时，常因其中的 DNA 模板来自 2 个或 2 个以上的个体，而使其表现出一些特殊的图谱，给分析结果带来一定的困难。由 Gill P 等人(1998 年)组成的 FSS(forensic science service)提出了下列分析混合检材的方法。他们使用的是荧光标记引物，复合扩增常染色体 STR 位点和 Amelogenin 位点，在自动测序仪中用 Genescan 和 Genotyper 软件分型。

1. 确定混合斑的根据

1)根据额外带的出现情况　在一般情况，每一个体的任何一个常染色体的 STR 位点最多只表现有 2 个等位基因。因此，若某一位点检测发现 3 条或 3 条以上的带，可以确认为是混合斑(图 17－3，图 17－4)。

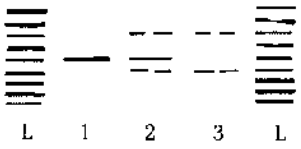


图 17－3 一例强奸案 D7S820 位点的检验结果(银染)

L：Ladder；1：嫌疑人血样；2：阴道拭子；3：受害人血样

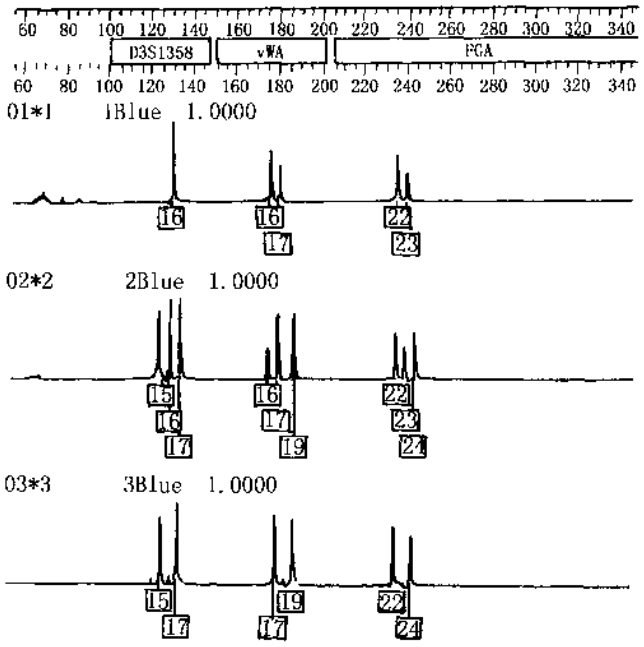


图 17－4　利用 ABI377 测序仪检验一例强奸案的结果

01*1 为嫌疑人血样；02*2 为阴道拭子；03*3 为受害人血样。02*2 有 01*1 和 02*2 出现的等位基因

但是并非出现 2 条以上的带就是混合检材，要和影子带（stutter band）、Pull－up 峰、N 带、非特异带以及嵌合体、三体型引起的三带型区别开来（见后面内容）。

2）根据峰面积或荧光强度的不对称性确定　混合斑并不一定总是出现多带，在一些情况下，如混合的个体间有近亲关系，或一些降解检材只能检出部分位点，就有可能出现混合斑只有 1 条或 2 条带的情况（图 17－5）。如混合斑系 TH01 位点 9,10 和 9,9 两种基因型的混合，在图谱上就只有 9,10 两种等位基因，这种现象称为遮挡效应。但是这种情况下，2 种等位基因之间的峰面积或带的浓度是有差异的，等位基因 9 的峰面积应明显大于 10。在正常情况下，杂合子的 2 个等位基因的峰面积的比值多大于 60%。因此，在一个表现为杂合子的位点，若 2 个等位基因的峰面积不对称或荧光强度有明显差异时，也提示可能系混合斑。

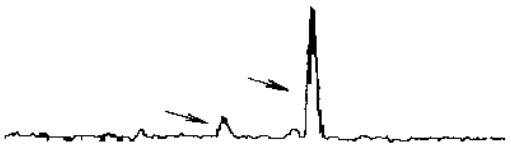


图 17－5　混合 DNA 分型时峰面积的不对称性

样本由姐妹俩的血混合而成，基因型为（13,13;13,8）

（引自 Evett, *et al*. J Forensic Sci. 1998,43(3):472～476）

2. 确定等位基因　在确认为混合斑之后，确定混合斑中所具有的等位基因或等位基因分型。

3. 确定混合斑可能有的个体数　除非是发生了遗传变异，2 个人的混合样品最多只有 4 个等位基因，出现 6 个等位基因，提示至少有 3 个或 3 个人以上的 DNA 混合。当发生 3 个人以上混合时，情况较复杂。强奸案中，若阴道上皮细胞与精子的 DNA 分离不完全，可见性别位点的 X 峰强于 Y 峰，提示图

谱上出现的一些等位基因可能来自女性。

4. 各个体组分的大概比例　混合样品中各个体 DNA 含量可能相差比较大，但是某一 STR 位点各等位基因的拷贝数的比例在一定范围内（小于 1∶5），PCR 扩增效率一般仍保持不变。因此可以根据峰面积的比率来推测各个体组分的比例。

当混合样品中的各个体间在一个或多个位点上没有相同的等位基因时，可直接根据同一位点不同等位基因的峰面积估计各个体间的 DNA 的比率。若有相同的等位基因时，可以根据峰面积的不对称性进行估测。假定混合样本中各个体的 DNA 的比例为 1∶1，则具有基因型 9，10 和 10，10 的 2 个个体混合样本分型图谱中等位基因 10 和 9 的峰面积比大约在 3∶1。

5. 找出混合样品中所有的基因型组合　一般要求技术人员在未比对受害人或嫌疑人的样本分型结果之前，对混合样本的分型结果单独进行分析其基因型的组合。这样做的优点在于：①不受对照样本结果的干扰，分析比较客观；②避免先入为主，考虑更加全面。

6. 与对照样本进行比较　将上一步中分析的各种组合可能与嫌疑人样本的基因型进行对比。若有其中一种或多种情况吻合，则不能排除此嫌疑人。简单的方法是将现场混合斑检材与对照样本作同一批检测，放在一起进行对比，容易判定 2 个样本间是否有一致的等位基因。

由于混合斑的复杂性，可能有些组分的 DNA 量比较少，在图谱上的信号很弱，表现为染色较淡或峰面积很小，有时与影子带难于区别。

7. 对混合斑 DNA 分型结果进行统计分析　用统计学原理进行处理。

三、影响混合斑 DNA 检验结果分析的因素

1. 影子带（stutter band）　影子带系 STR 分型中最常见的额外带（图 17－6）。一般认为，它是 DNA 引物延伸过程中 Taq DNA 聚合酶发生滑脱所致的。影子带在重复单位为二、三核苷酸的 STR 分型中很常见，也发生于四核苷酸重复序列分型中，特别多见于复合扩增。在 PCR 条件没有优化、循环次数过多的情况下易出现。影子带可出现在一个或多个 STR 位点，或一个位点的多个等位基因。Gill P 等（1998 年）发现 D21S11 和 D18S51 两位点的影子带出现率较高，达 50% 以上，TH01 和 vWA 位点也有。影子带的特征是：比相应的主带少一个重复单位，也可以多一个复重单位；一般峰面积小于主带的 15%，在银染凝胶上表现得比主带浅淡；如果是杂合子个体，2 个等位基因常同时出现影子带（图 17－7）。

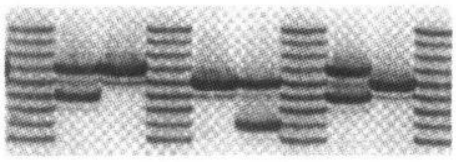


图 17－6　影子带

主带的下面有少一个重复单位的染色较淡的带

2. 非特异性带（non－specific artifacts）　非特异性带系各等位基因的 DNA 片段变性后复性时，所有单链 DNA 随机复性形成的杂合二聚体（heterodimer），这些杂合二聚体的 2 条单链只是部分区段互补。因此，其一个显著特征是表现为片段较长。复合扩增时，这种现象尤其明显，且扩增的位点越多非特异带就越多。降解的 DNA 模板由于短片段变性后非同源 DNA 的单链有部分序列互补，或 PCR 条件未优化也可出现非特异带。

非特异带的特征：①与最靠近的等位基因的条带比较，峰面积较小或银染时条带色淡，多数小于主

带的5%；②多数位于该位点的等位基因长度范围之外，若是杂合二聚体，则其长度较原先存在的等位基因的片段长许多；③峰的形态发生变形；④条带的位置与特异带的位置不符。



dye/sample peak	minutes	size	peak height	peak area	data point
B, 8	106.40	308.93	707	7005	3990
B, 9	107.57	312.79	3672	30594	4034
B, 10	108.69	316.48	2319	20832	4076

图 17－7　影子带特征

在2个主峰的前面有一个低峰，大小为308.93 bp

Y轴坐标为峰高(peak height)；dye/sample peak：荧光颜色/样本峰次序；minutes：检测到该峰(peak)的时间(min)；size：长度；peak height：峰高；peak area：峰面积；data point：扫描数

3. 遗传性异常　染色体异常，如出现三倍体，在临床上称为三体综合征，结果有可能在一个位点出现3条带。如果三倍体不伴随其他突变，某一位点的等位基因只有2条带时，则这2条带强度约是2∶1(图17－8)。

胚胎发育的早期，可以发生体细胞突变，形成2种不同类型的细胞群，共存于同一个体内，形成所谓的嵌合体(mosaic)，导致分型中有的位点出现3条以上的带。

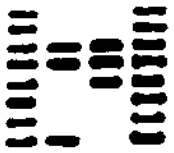


图 17－8　TPOX位点的三带现象

2个个体的样本各有3条带

(Crouse. J Forensic Sci, 1999, 44(1): 87～94)

由遗传引起的异常较少发生，且多数只出现一条额外带，如果这类突变不具有组织特异性，则在对照样体中可以发现相同的带，一旦发现，则更有力支持检材中含有与对照样本相同的DNA。

4. 拔起峰(pull－up peak)　利用多色荧光标记引物进行复合扩增，在DNA自动测序仪中检测和分析结果时，由于各种荧光的光谱之间有重叠，需要用一个软件(如"matrix file")进行校正，从主颜色峰中消除次峰的颜色。若过度扩增或上样量太大，某种颜色的荧光信号很强，超过CCD检测荧光强度的极限或软件处理信号的极限，就会在一种主峰颜色下面出现另一种颜色的小峰，即拔起峰(pull－up peak)(彩图17－1)。如黄色峰下面有一绿色峰。

拔起峰要与2种不同颜色标记的2个位点在同一位置上有等位基因时出现的现象相区分。在ABI 377测序仪中，拔起峰与主峰的激光扫描数相差小于3个单位，在Genetyper中峰的形态呈不典型的"N/N＋1"带双峰。一般根据峰的位置与形态容易辨别。若无法辨别，可作单位点扩增加以证实。

5. 实验操作不当　最常见的操作失误是相邻泳道之间发生样品渗漏。这时会出现相邻两泳道有泳动速度相同，但强弱明显不同的谱带。

6. 差异扩增　混合斑检验时，差异扩增可见于：①模板DNA中2个等位基因的拷贝数不等，出现"优势扩增"现象；②片段长度相差较大的2个等位基因，往往是长度较小的等位基因的扩增效率较好。同一位点STR的等位基因间大小相差不大，一般扩增效率都相差不远(图17－9)。

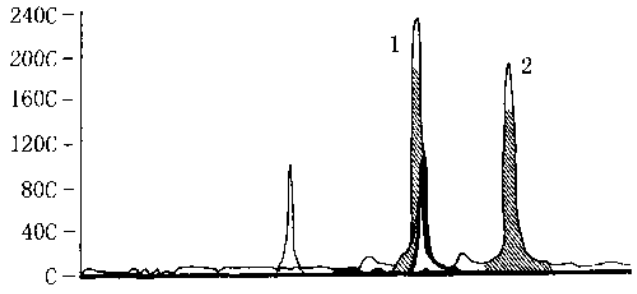


图 17-9 差异扩增

复合扩增时，同一位点的 2 个峰（峰 1、峰 2）的面积不等（深颜色峰），分子质量小的等位基因（峰 1）的峰面积较大，浅颜色峰为另一位点

7. 模板序列变异引起的扩增抑制 检测 STR 位点的等位基因时，引物按重复序列两翼的保守序列来设计，如果某些个体 DNA 模板与引物结合处的少数序列发生突变，引物与模板的复性温度会降低，这时继续采用严谨性高的反应体系，其扩增效率会降低。如果模板 DNA 序列的变异刚好发生在引物结合 3′端末位碱基，则引物无法延伸，原来杂合子的个体有可能只扩出一个等位基因，形成假纯合子（pseudohomozygote）。中山医科大学法医鉴定中心发现在用 Profiler Plus Kit 检测时，中国人群中 D8S 1 179 位点可经常见到此现象，这是因为该位点的引物是按白种人的 DNA 序列来设计的，不适合中国人使用。

总体来说，由突变导致扩增效率改变的发生率是较低的，而且此时，同一个体不同组织均会发生同样的变异。

第八节 Y 染色体 DNA 多态性分析技术在混合斑检测中的应用

如前所述，二步消化法不能有效去除女性阴道上皮细胞 DNA 等难题，检测常染色体的 STR 时，由于优势扩增，可致混合斑中量少的组分检测不出，即使是检测出，其结果分析也有很多困难。因此，较好的方法是只检测其中某类个体独特的 DNA 多态性，排除其他个体的 DNA 对实验结果的干扰。Y 染色体 DNA 正是这一理想的工具。

Y 染色体特异性 DNA 系男性所特有，并呈父系遗传，决定了 Y 染色体多态性的 DNA 在强奸案混合斑检验中，有独特的应用价值。

一、Y 染色体 STR 的优越性

1. 性犯罪是最常见的刑事案件，这类案件送验的生物学检材多数是从受害人阴道内提取的阴道内容物，系男性和女性的混合物。对男性和女性混合斑不同个体成分的分离一直是法医学上悬而未决的难题。无论是从细胞，还是 DNA 水平，都会因为分离手段复杂且效果不理想，使得实验结果常表现为含有男女混合的成分。而且检验常染色体的 DNA 标记时，因是混合材料表现出图谱复杂，增加对结果分析判断的难度。因此，只检测男性特异的 Y 染色体 DNA，可避免女性 DNA 的干扰，能为性犯罪的个人识别提供一个很好的方法。

2. 遇上无精子或输精管结扎的男性犯罪嫌疑人，混合斑中只有男性和女性的上皮细胞，此时若采用二步消化法，也无法分离男、女之间的 DNA。若检验常染色体上的多态性 DNA，所得到的是受害人和嫌疑人两者的混合物，难以分析。若特异地检测 Y 染色体 DNA 多态性，则不会受女性 DNA 的影响。

3. 用 PCR 对混合斑进行检验的一个明显缺点就是优势扩增，如检测常染色体的 DNA，当女性 DNA

的量多于男性 DNA 时，男性常染色体的 STR 等位基因可能扩增失败。而采用 Y 染色体 DNA 特异的引物，则不受此优势扩增的影响。

4. Y 染色体的 STR 位点与常染色体的 DNA 有所不同，它的单倍体形式容易区分，每个个体的一个位点（除 DYS389 和 DYS385 两位点外）电泳图谱上只表现一条带，因此，可以根据电泳结果的条带数确定混合斑中男性的个体数目，这在常染色体 STR 位点分析中是较难得到的信息。

二、注意事项

虽然在混合斑中检测 Y 染色体的 DNA 具有上述诸多优点，但在鉴定中应注意下列问题：①当混合斑中有多个男性的成分时，优势扩增仍然无法避免；②检验 Y 染色体 DNA，有时灵敏度可能不如检验常染色体的或线粒体的 DNA，需要对引物序列或扩增条件进行优化；③用 Y 染色体 STR DNA 分型做出个人认定时必须谨慎小心。因为相同的单倍型存在于嫌疑人的兄弟、儿子、父亲以及与父亲有直系关系的男性亲属及其男孩中。此外，目前发现的 Y 染色体的 STR 多态性位点有限，等位基因也少。因此，Y 染色体 STR 的 DNA 分型仍被看做是常染色体 DNA 分型的重要补充。

混合斑的检验是法医物证学难题之一，要对一个混合斑做出正确的判定，不仅需要生化知识，而且必须具备相当程度的生物统计学知识。在目前的技术条件下，许多混合斑的检验结果只能依靠统计学进行解释。

参 考 文 献

1 Abe S, Kunii S, Fujita T, *et al*. Detection of human seminal gamma－glutamyl transpeptidase in stains using sandwich ELISA. Forensic Sci Int, 1998, 91(1): 19～28

2 Abe S, Gunji H, Kunii S, *et al*. Semen specific gamma－glutamyltransferase carries ABH antigens: a sandwich ELISA for simultaneous semen detection and its ABO blood typing. Clin Chim Acta, 1999, 283(1～2): 183～194

3 Anderson TD, Ross JP, Roby RK, *et al*. A validation study for the extraction and analysis of DNA from human nail material and its application to forensic casework. J Forensic Sci, 1999, 44(5): 1 053～1 056

4 Banaschak S, Moller K, Pfeiffer H. Potential DNA mixtures introduced through kissing. Int J Legal Med, 1998, 111(5): 284～285

5 Bauer M, Kraus A, Patzelt D. Detection of epithelial cells in dried blood stains by reverse transcriptase－polymerase chain reaction. J Forensic Sci, 1999, 44(6): 1 232～1 236

6 Cattaneo C, Craig OE, James NT, *et al*. Comparison of three DNA extraction methods on bone and blood stains up to 43 years old and amplification of three different gene sequences. J Forensic Sci, 1997, 42(6): 1 126～1 135

7 Clayton TM, Whitaker JP, Sparkes R, *et al*. Analysis and interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling. Forensic Sci Int, 1998, 91(1): 55～70

8 Collins KA, Cina MS, Pettenati MJ, *et al*. Identification of female cells in postcoital penile swabs using fluorescence in situ hybridization. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(7): 1 080～1 082

9 Davidson AK, Lee LD. Unusual results due to transfused blood. Sci Justice, 1999, 39(3): 179～180

10 Evett IW, Foreman LA, Lambert JA, *et al*. Using a tree diagram to interpret a mixed DNA profile.

J Forensic Sci,1998, 43(3):472 ~ 476

11 Evison MP, Smillie DM, Chamberlain AT. Extraction of single - copy nuclear DNA from forensic specimens with a variety of postmortem histories. J Forensic Sci,1997, 42(6):1 032 ~ 1 038

12 Fukshansky N, Bar W. Interpreting forensic DNA evidence on the basis of hypotheses testing. Int J Legal Med,1998, 111(2):62 ~ 66

13 Gill P, Sparkes R, Pinchin R, *et al*. Interpreting simple STR mixtures using allele peak areas. Forensic Sci Int,1998, 91(1):41 ~ 53

14 Hochmeister MN, Whelan M, Borer UV, *et al*. Effects of toluidine blue and destaining reagents used in sexual assault examinations on the ability to obtain DNA profiles from postcoital vaginal swabs. J Forensic Sci,1997, 42(2):316 ~ 319

15 Hochmeister MN, Budowle B, Rudin O, *et al*. Evaluation of prostate - specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. J Forensic Sci,1999, 44(5): 1 057 ~ 1 060

16 Johnson ED, Kotowski TM. Detection of prostate specific antigen by ELISA. J Forensic Sci,1993, 38(2):250 ~ 258

17 Kishi K, Yasuda T. Forensic applications of genetic polymorphisms detected in human body fluids (urine, semen and blood). Forensic Sci Int,1996, 80(1 ~ 2):89 ~ 97

18 Kreike J, Lehner A. Sex determination and DNA competition in the analysis of forensic mixed stains by PCR. Int J Legal Med,1995, 107(5):235 ~ 238

19 La Fountain M, Schwartz M, Cormier J, *et al*. Validation of capillary electrophoresis for analysis of the X - Y homologous amelogenin gene. J Forensic Sci,1998, 43(6):1 188 ~ 1 194

20 Lorente M, Lorente JA, Alvarez JC, *et al*. Sequential multiplex amplification: utility in forensic casework with minimal amounts of DNA and partially degraded samples. J Forensic Sci,1997, 42 (5):923 ~ 925

21 Lygo JE, Johnson PE, Holdaway DJ, *et al*. The validation of short tandem repeat (STR) loci for use in forensic casework. Int J Legal Med,1994, 107(2):77 ~ 89

22 Matsubara K, Tanabe K, Yuasa I, *et al*. A unique and sensitive ELISA technique for typing ABH antigens in bloodstains using UEA - I lectin - the removal of detergent with a Sephadex G - 25 mini - column improves sensitivity. J Forensic Sci,1996, 41(1):35 ~ 39

23 Milde A, Kuhl BR, Ritz TS, *et al*. DNA typing in cases of blood chimerism. Int J Legal Med, 1999, 112(5):333 ~ 335

24 Oz C, Zamir A. An evaluation of the relevance of routine DNA typing of fingernail clippings for forensic casework. J Forensic Sci,2000, 45(1):158 ~ 160

25 Prinz M, Boll K, Baum H,*et al*. Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples. Forensic Sci Int,1997, 85(3):209 ~ 218

26 Rerkamnuaychoke B, Chantratita W, Jomsawat U, *et al*. Comparison of DNA extraction from blood stain and decomposed muscle in STR polymorphism analysis. J Med Assoc Thai,2000, 83(suppl 1):S82 ~ S88

27 Sawazaki K, Yasuda T, Nadano D, *et al*. A new individualization marker of semen: deoxyribonuclease I (DNase I) polymorphism. Forensic Sci Int,1992, 57(1):39 ~ 44

28 Schneider PM, d'Aloja E, Dupuy BM, *et al*. Results of collaborative study regarding the standardization of the Y - linked STR system DYS385 by the European DNA Profiling (EDNAP) group. Fo-

rensic Sci Int,1999, 102(2~3):159~165

29 Shutler GG, Gagnon P, Verret G, *et al*. Removal of a PCR inhibitor and resolution of DNA STR types in mixed human – canine stains from a five year old case. J Forensic Sci,1999, 44(3):623~626

30 Simich JP, Morris SL, Klick RL, *et al*. Validation of the use of a commercially available kit for the identification of prostate specific antigen (PSA) in semen stains. J Forensic Sci,1999, 44(6): 1 229~1 231

31 Sparkes R, Kimpton C, Gilbard S, *et al*. The validation of a 7 – locus multiplex STR test for use in forensic casework. (II), Artefacts, casework studies and success rates. Int J Legal Med,1996, 109(4):195~204

32 Sparkes R, Kimpton C, Watson S, *et al*. The validation of a 7 – locus multiplex STR test for use in forensic casework. (I). Mixtures, ageing, degradation and species studies. Int J Legal Med,1996, 109(4):186~194

33 Stacks B, Witte MM. Sex determination of dried blood stains using the polymerase chain reaction (PCR) with homologous X – Y primers of the zinc finger protein gene. J Forensic Sci,1996, 41(2):287~290

34 Sutton JC, Bosley C, Rands A. The detection by enzyme linked immunosorbent assay of P30 and 19 – OH prostaglandin F1/F2, in the presence of a range of possible contaminants. Sci Justice, 1998, 38(3):157~164

35 Uchihi R, Yamamoto T, Kojima T, *et al*. Efficient amplification of the HLA – DQA1 gene in single genomes using a semi – nested polymerase chain reaction. Nippon Hoigaku Zasshi,1994, 48(5): 329~335

36 Van Oorschot RA, Gutowski SJ, Robinson SL, *et al*. HUMTH01 validation studies: effect of substrate, environment, and mixtures. J Forensic Sci,1996, 41(1):142~145

37 Wallin JM, Buoncristiani MR, Lazaruk KD, *et al*. TWGDAM validation of the AmpFISTR blue PCR amplification kit for forensic casework analysis. J Forensic Sci,1998, 43(4):854~870

38 Weir BS, Triggs CM, Starling L, *et al*. Interpreting DNA mixtures. J Forensic Sci,1997, 42(2): 213~222

39 李昌钰, 李生斌. 法科学. 北京: 中国人民公安大学出版社, 2000

40 Curran JM, Triggs CM, Buckleton J, *et al*. Interpreting DNA mixtures in structured populations. J Forensic Sci,1999, 44(5): 987~995

第十八章　亲子鉴定和血缘关系鉴定进展

李建金　伍新尧

一、概念及历史

亲子鉴定是指利用医学、遗传学的理论和免疫学、生化学和分子生物学等技术对有争议的父母与孩子之间是否存在亲生关系进行鉴定的专门技术；对被检验者之间是否存在血缘关系（如祖、孙；叔、侄；兄弟姐妹等）进行检测分析则称为血缘关系鉴定。

我国在20世纪80年代随着酶型、血清蛋白型、HLA分型技术的应用，亲子鉴定技术得到了迅速发展，特别是1986年广东省人民医院女婴纠纷案经过科学鉴定得以顺利解决以后，广大群众逐渐知道可以用亲子鉴定技术解决许多与法律有关的问题，因此，要求进行亲子鉴定的案例逐年增多。自1985年Jeffreys和Mullis创建DNA指纹及PCR技术以来，亲子鉴定技术有了一个飞跃的发展。目前PCR技术被广泛应用于亲子鉴定和血缘关系鉴定中，排除率达到1×10^{-17}以上，亲权概率可达0.999 9以上。

二、亲子鉴定的分类

要求进行亲子鉴定的原因很多，可归纳如下。①家庭纠纷：通常是丈夫怀疑妻子不忠，对孩子是否亲生有疑问。②遗产继承：需确定孩子是否亲生。③移民：当签证官不能确定申请人之间是否具有亲生关系时，往往会要求申请人进行亲子鉴定。④怀疑医院错换婴儿。⑤非婚生育：要求入户或男方怀疑孩子不是亲生。⑥认亲：除亲子鉴定外，有时还会有祖、孙；叔、侄；兄弟姐妹之间的亲权鉴定。⑦计划生育：被怀疑为超生，需进行亲子鉴定。⑧被拐卖儿童的认领。⑨刑事案：强奸致孕，通过亲子鉴定可认定罪犯。碎尸案，毁尸灭迹，但在现场找到血痕等物证，通过亲子鉴定可确定被害人的身份。无名尸与失踪者是否为同一人，有时也可通过亲子鉴定进行个人认定。

三、鉴定技术

亲生关系的判断可通过下列四方面的原理来进行：①常染色体的 STR 位点按孟德尔规律遗传；②父子关系还可通过 Y 染色体 STR 位点的遗传规律；③母子、母女关系还可通过 X 染色体单倍型的遗传规律；④母系遗传可通过线粒体 DNA（mtDNA）序列分析，但同时必须注意 mtDNA 的异质性问题。

四、判断标准

1. 肯定亲生关系的标准　判断被鉴定人之间是否具有亲生关系，利用常染色体 STR 位点来作亲子鉴定时，首先必须遵守孟德尔遗传规律，即：孩子的基因一半来自父亲、一半来自母亲；若符合这条遗传规律，则说明争议的父母与孩子之间可能存在亲生关系，需要进一步计算亲权概率，如果亲权概率能够达到 0.999 0 以上，则可认定被鉴定人之间具有亲生关系。

若检测的常染色体 STR 位点中有不符合上述孟德尔遗传规律的，则应该考虑 2 种可能性：一是争议的父母子之间本来存在亲生关系，而由于 STR 等位基因在遗传过程中发生变异（见第 15 章）；另一是争议的父母子确实不存在亲生关系。当出现 1～2 个 STR 位点违反遗传规律时，应进一步增加检测位点。若把不符合孟德尔遗传规律的 STR 位点假定为突变事件时，则可根据 Ayres KL 介绍的公式（具体计算方法见第 19 章）计算该位点的父权指数，通常这样的位点父权指数在 10^{-3} 左右或更小，经增加检测的 STR 位点，一起计算父权指数，若最后父权指数大于 1 000（或父权概率大于 0.999 0），则可将与孟德尔遗传规律矛盾的 STR 位点看成突变事件。根据我们获得的中国汉族人群资料计算，当检测的 STR 位点达到 17 个时，其中只有 1 个位点与孟德尔遗传规律矛盾，其父权概率仍可达到 0.999 0 以上；若有 2 个 STR 位点与孟德尔遗传规律矛盾时，则必须增加分析 STR 位点，直至有 24 个 STR 位点都符合孟德尔遗传规律时，其父权概率才会达到或超过 0.999 0。这几年来，经过 3 000 多例亲子鉴定案件的实践，证明用这样的标准来肯定亲生关系时，不会产生错判，结论可靠。

2. 否定亲生关系的标准　如果检测系统中有 3 个或 3 个以上的 STR 位点的遗传违反了孟德尔遗传规律，则可否定该案具有亲生关系。事实上，在我们所检测的 3 000 多例亲子鉴定实践中，凡是否定亲生关系的案件都是超过 3 个 STR 位点违反孟德尔遗传规律，尚未发现一例刚好只有 3 个 STR 位点遗传矛盾就下否定结论的。

3. 单亲案亲子鉴定的判断标准　对于单亲案亲子鉴定，由于缺少父或母其中一方，无法进行遗传基因的比对，从理论上来说，难以下肯定的结论，必须增加检测 STR 位点数。特别是在父子的单亲案亲子鉴定中，由于母亲的基因未检测，当父子都含有某个位点的某一基因时，从表面上看，父子之间不违反遗传规律，若母亲刚好也含有该基因时，按照目前的实际情况，母亲分娩婴儿都有医护人员证明，此时应首先考虑该基因是母传给子的。下面是一个实际案例（表 18－1）。

显然，在这个案例中，如果没有检测母亲的 DNA，则父子之间在上述 14 个 STR 位点均不违反遗传规律；而在此案中，实际上父子之间有 5 个 STR 位点：FGA、D8S1179、D21S11、D16S690、D3S1359 违反遗传规律。从这个案例中可以看出，在进行单亲案亲子鉴定时，即使父子之间不违反孟德尔遗传规律，亦不能轻易做出肯定亲生关系的结论。

在我们实验室近几年的近 1 000 例单亲案的亲子鉴定案例中，当被检测的 STR 位点达到 20 个以上时，若父子之间不存在亲生关系，必然会有 3 个以上的 STR 位点违反遗传规律，尚未见有刚好 3 个 STR 位点矛盾的案例。

表 18－1　单亲案亲子鉴定举例

	D3S1358	vWA	FGA	D5S818	D13S317
父	16	14	23,24	9,13	8,13
母	15,18	17	19,24	11,13	8,10
子	15,16	14,17	18,24	11,13	8
	D7S820	D8S1179	D21S11	D18S51	D16S690
父	11,12	10,11	29,30.2	15,16	20,23
母	9,11	10,14	29	15,21	23,24.2
子	9,11	10,13	29,31	15	23,25
	D3S1359	TH01	D19S253	D13S631	
父	15,16	9	10,14	15,16	
母	15,17	9	11,14	15	
子	14,15	9	14	15	

4. 特殊案例的判断标准　在某些案例中，父亲已死亡（如交通事故、猝死、被杀等），而小孩是其父的婚外子女，此时往往会涉及抚养或财产继承的问题，这种案例则需进行祖孙或叔侄关系的鉴定。若（外）祖父、（外）祖母均健在，可以请他们一起进行检查，根据遗传规律，小孩每个 STR 位点上均必须有一个基因在其祖父或祖母的相应 STR 位点上找到，否则可排除祖孙关系（3 个以上 STR 位点违反这一遗传规律）。若祖父、祖母已故，而其父有兄弟姐妹时，则可通过检测母、子、叔（姑）的 STR 位点，先确定母传给子的基因，再根据叔（姑）的基因推测其父的基因。如果小孩是男性，还可进行 Y 染色体上 STR 位点的检测，同一家族的男性其 Y 染色体上 STR 位点的基因单倍型应完全一致。

另外还有一些案例，父母已故，兄弟姐妹之间需要认亲，可通过检测兄弟姐妹的基因推测出其父母的基因，再确定被鉴定人是否兄弟姐妹。姐妹之间还可以进行线粒体 DNA 的序列分析。关于祖、孙；叔、侄；兄弟姐妹之间的亲缘关系鉴定，可以按第 19 章介绍的方法进行计算，再确定他们之间的关系。

五、概率的计算

经检查后，若争议的父母与孩子的基因型之间符合上述遗传规律，则可计算他们之间的亲权指数。

亲权指数（paternity index，PI）的原意是：争议男人为该母亲所生的这个孩子的真正父亲时，出现检测所得的血型（基因型）组合的概率，与争议男人不是这个孩子的真正父亲，而是随机男人时，出现检测所得的血型（基因型）组合的概率的比值。可用 X、Y 分别代表上述 2 种概率。PI = X/Y。在一般情况下，可以理解为：X 为案中男人传递某等位基因给孩子的机会，Y 为随机男人传递该等位基因的机会。

亲权概率（paternity probability，又称 W 值）是指：有争议的父亲是孩子亲生父亲的可能性。计算公式：W = X/X + Y = PI/PI + 1。当 W≥0.999 0 时，则可认定争议父亲是孩子的生父。

X = 争议父亲（alleged father，AF）传生父基因的机会

Y = 随机男人（random man，RM）传生父基因的机会

以 vWA 位点为例：AF 14，15；M 16，17；C 15，17。母传 17 给孩子，生父基因为 15（设 15 的基因频率

为 f_{15})。则:$X = 1/2$;$Y = f_{15}$。

若父母子均为 14,15 杂合子时,父可以传 14 或 15 给子;同样母亦可以传 14 或 15 给子。此时父权指数的计算应将 2 种情况都考虑进去,即:

$PI_1 = 2f_{14}f_{15} \times 2f_{14}f_{15} \times 0.5/2f_{14}f_{15} \times 2f_{14}f_{15} \times f_{14} = 0.5/f_{14}$

$PI_2 = 2f_{14}f_{15} \times 2f_{14}f_{15} \times 0.5/2f_{14}f_{15} \times 2f_{14}f_{15} \times f_{15} = 0.5/f_{15}$

$PI = PI_1 + PI_2 = 0.5/f_{14} + 0.5/f_{15}$

在只有父子的单亲案亲子鉴定中,由于不能确定来自母亲的必需基因的机会,因此应将母亲传递必需基因的机会按随机个体处理。此时,X =(AF 传 15 的机会)×(M 传 17 的机会)+(AF 传 17 的机会)×(M 传 15 的机会);Y =(RM 传 17 的机会 × M 传 15 的机会)+(RM 传 15 的机会 × M 传 17 的机会)。

六、鉴定结论

亲子鉴定鉴定书结论包括 3 种。

1. 肯定亲子关系　在所有检测的 STR 位点中,父母子之间均符合遗传规律,或即使有 1 ~ 2 个 STR 位点不符合孟德尔规律,也可计算其亲权概率,若亲权概率达到 0.999 0 以上时,则可肯定亲子关系。

2. 否定亲子关系　若被鉴定人之间违反遗传规律(将突变因素考虑在内,3 个位点以上违反遗传规律),则可否定亲子关系。

3. 不排除亲子关系　在进行单亲亲子鉴定时(只有父或母一方),由于另一方的基因不知道,当被鉴定人之间符合遗传规律时,亦只能下不排除亲子关系的结论。但可以计算父权或母权概率,若检测的 STR 位点足够多(20 个以上),通常其概率可达 0.999 9 以上,尽管结论为不排除亲子关系,但已足以说明问题。

七、注意事项

在进行亲子鉴定的过程中必须注意如下几个事项:标本的真实性;结果的准确性;结论的科学性。

1. 标本的真实性　核对被鉴定人的有效身份证件,留下指纹,照相。提取标本时应写好标签,确保标本无误。对送检的标本,其真实性由委托方负责。如果怀疑被鉴定人近期内(6 个月)接受过输血,则应提取口腔黏膜细胞作为检验标本。

2. 结果的准确性　①试剂质量良好。②仪器设备质量良好。③鉴定人经验丰富,操作熟练。④实验结果的重复性好。⑤充分考虑突变因素。目前用于亲子鉴定的 STR 位点的突变率较高,远远超过人类基因组的平均突变率,人类基因组的平均突变率为 1.4×10^{-10}。作者等人曾统计过,STR 位点的平均突变率大约为 1×10^{-3},最高者(如 D11S554)可达 0.444 8%。因此在采用 STR 位点进行亲子鉴定时,必须充分考虑 STR 位点在遗传过程中突变率较高这种现象。⑥群体的差异。目前多采用进口试剂盒进行标准化 DNA - STR 位点分型,但西方人群 STR 基因型的分布与中国人群有所不同,更重要的是在重复序列两翼的序列,中国人有自己的特点,采用白种人的试剂盒,容易出现漏扩现象。因此进口试剂盒并不完全适用于中国人群,在进行 DNA - STR 位点分型时应充分考虑这一差异。

3. 结论的可靠性　对于双亲参与的亲子鉴定,可以得出肯定或否定的结论;而只有单亲参与的亲子鉴定及血缘关系鉴定(如祖、孙;叔、侄;兄弟姐妹等),理论上仍只能得出排除或不排除的结论。就目前的实验技术而言,亲子鉴定的累积排除率可达 1×10^{-17},因此在单亲亲子鉴定中,不排除亲子关系的结论已经完全能够说明问题。

参 考 文 献

1 Karen LA. Relatedness testing in subdivided population. Forensic Sci Inter,2000, 114:107

2 Chakraborty R, Stivers DN. Paternity exclusion by DNA marks: Effects of paternal mutations. J Forensic Sci,1996, 41:671

3 伍新尧,李建金,伍祥林,等. 单亲案的亲权概率的计算及认定标准. 中国法医学杂志,2000,15(增刊):5

4 李建金,伍祥林,吕德坚,等. 短串联重复基因座突变率的分析研究. 中国法医学杂志,2000,15(增刊):10

5 杨庆恩. 亲子鉴定 DNA 分型亲权指数的简化计算法. 中国法医学杂志,1998,13(2):90

6 肖仰哲,王保捷. 短串联重复 DNA 多态性及其法医学应用. 法律与医学杂志,1997,4(4):122

7 Brinkmann B,Klintschar M,Neuhuber F, *et al*. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. Am J Hum Genet,1998,62:1 408

8 Sun Hongyu,Wu Xinyao,Li Jianjin, *et al*. Non amplification of alleles of D8S1179 locus using profiler plus™ Kit. Forensic Sci Inter,2001(accepted)

第十九章 生物统计学在法医学上的应用

吕德坚 伍新尧 黎黎

DNA 数据的群体遗传学分析是法医学上利用 DNA 分型进行个人识别的基础。因为，只有群体抽样调查得出的 DNA 分型的数据，如各基因座的等位基因频率、基因型频率，符合某种规律，如 Hardy - Weinberg 平衡和连锁平衡等，才表明这些数据可以作为此群体相关数据的代表，然后即可利用这些数据和相应的统计方法，计算出各种 DNA 图谱在人群出现的概率。DNA 数据的统计学处理方法，是否符合群体遗传学理论，在法医遗传学界曾引起很大的争议，DNA 的数据处理方法的可靠性在法庭上曾受到怀疑。因此，正确的 DNA 数据统计是分析 DNA 检验结论可信的基础，可靠的群体遗传学的指标，是计算 DNA 分型个人识别率和亲权概率的前提。

由于 DNA 指纹图在实际检案已逐渐被 PCR - STR 图谱所替代，因此，本章所讨论的数据处理方法，主要是针对以 STR 为主的数据。

第一节 群体遗传学相关概念

群体遗传学的内容很多，与法医 DNA 数据有关的主要有等位基因和基因型的频率、Hardy - Weinberg 平衡、位点间的连锁平衡、群体结构等内容。

一、等位基因频率

等位基因频率(allele frequency)是指某个基因座(locus，又称为位点)的某一等位基因在群体中出现的概率。可由多种方法求得，法医学上最多采用的是直接计数(count)法。计算方法见本章第二节。

二、Hardy - Weinberg 平衡检验

Hardy - Weinberg 平衡(Hardy - Weinberg equilibrium，HWE)在法医 DNA 分析中很重要，只有在

HWE 条件下，才可以较为准确地计算出能代表检测群体某位点的等位基因和基因型的频率。

设 p_i、p_j 分别是群体的等位基因 A_i、A_j 的等位基因频率，P_{ii}、P_{ij} 分别是纯合子 A_iA_i、杂合子 A_iA_j 的基因型频率，在 HWE 下：

纯合子 A_iA_i 的频率：$P_{ii} = p_i^2$ （公式 19－1）

杂合子 A_iA_j 的频率：$P_{ij} = 2p_i p_j, i < j$ （公式 19－2）

在作人类某基因位点的群体资料调查时，往往是在该群体中抽查一定数量的个体，得出了一系列的数据。这些数据是否达到了 HWE，亦即是否可以代表该人群整体，就须要作 HWE 检验。

对一个抽样的样本，可以通过多种统计方法检测其基因型频率是否达到了 HWE 分布。

（一）χ^2 检验拟合优度法

χ^2 检验拟合优度法是比较基因型数目的观察值与该位点的全部基因型频率分布在 HWE 下的期望值。

$$\chi^2 = \sum_{i,j} \frac{(O_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}} \quad \text{（公式 19－3）}$$

o_{ij} 为基因型计数的观察值，e_{ij} 为该基因型的期望值；当 $i = j$，$e_{ij} = np_i^2$，当 $j \neq i$，$e_{ij} = 2np_ip_j$，n 为样本数。自由度 df = 基因型种类数（观察值）－等位基因种类数。

χ^2 检验是经典的方法，它要求列联表中每个格子的数均大于 5，而 DNA 位点的高多态性，每一位点有许多等位基因，在人群调查时经常会出现一些基因型的观察数目小于 5，甚至有些等位基因可能由于调查的样本量过小以致还不能被观察到。在过去，通常的做法是将小于 5 的数据与其他数据合并，使之大于 5，重新分类再进行 χ^2 检验，或者使用 Yate's 校正检验。表 19－1 和表 19－2 给出了一个合并数据的例子。

表 19－1　意大利南部 D1S80 位点的等位基因和基因型频率分布（n = 141）

[J Forensic Sci, 1998, 43(4): 911～912]

等位基因	频率	基因型	观察值	频率
18	0.223	18	12	0.085
19	0.007	18～20	1	0.007
20	0.010	18～21	4	0.028
21	0.056	18～22	7	0.049
22	0.070	18～24	17	0.120
23	0.010	18～25	1	0.007
24	0.368	18～27	1	0.007
25	0.028	18～29	7	0.049
26	0.010	18～33	1	0.007
27	0.014	19～21	1	0.007

续表 19－1

等位基因	频率	基因型	观察值	频率
28	0.049	19～24	1	0.007
29	0.085	20～24	1	0.007
30	0.028	20～28	1	0.007
31	0.021	21	1	0.007
33	0.007	21～22	1	0.007
34	0.007	21～24	5	0.035
		21～29	2	0.014
		21～31	1	0.007
		22	1	0.007
		22～24	5	0.035
		22～25	1	0.007
		22～28	2	0.014
		22～29	2	0.014
		23～24	2	0.014
		23～30	1	0.007
		24	20	0.141
		24～25	4	0.028
		24～26	3	0.021
		24～27	1	0.007
		24～28	9	0.063
		24～29	6	0.042
		24～30	5	0.035
		24～31	4	0.028
		24～33	1	0.007
		25～27	1	0.007
		25～29	1	0.007
		27～29	1	0.007
		28～30	1	0.007
		28～31	1	0.007
		29	1	0.007
		29～30	1	0.007
		29～34	2	0.014

按基因型观察值不足 5 的，合并成为一组，得到表 19－2。

表 19－2　表 19－1 数据分组和 χ^2 检验结果

分组	等位基因
Ⅰ	18
Ⅱ	19～23
Ⅲ	24
Ⅳ	25～28
Ⅴ	29～34
χ^2	10.93
$P(df=10)$	0.5～0.3

将小于 5 的数据与其他数据合并后再检验，已不能反映原始数据的情况，这种做法是不合理的，因此 χ^2 检验被认为是有偏差的，一般不适用于 DNA 的数据检验，除非是该位点的等位基因数很少，样本量很大。χ^2 检验已经被似然比检验和正合检验所取代（见下文）。

（二）纯合度检验（homozygosity test）

纯合度检验检测纯合度的观察值是否与 HWE 条件下的期望值一致。

$$\chi^2 = \frac{n(Ho - ho)^2}{ho(1 - ho)} \qquad \text{（公式 19－4）}$$

Ho 为纯合度的观察值，Ho = 纯合子数目观察值/n，ho 为纯合度的期望值（无偏估计），$ho = (2n\sum p_i^2 - 1)/(2n-1)$，$n$ 为样本量，$df=1$。

某群体的 D3S1358 和 Hum vWA 两位点等位基因频率和纯合度检验结果见表 19－3。

表 19－3　某群体的 D3S1358 和 Hum vWA 两位点的等位基因频率和纯合度检验结果（$n=221$）

等位基因	D3S1358	HUMVWA
13	0.004 5	0.009 1
14	0.097 3	0.117 7
15	0.267 0	0.092 8
16	0.264 7	0.183 3
17	0.190 1	0.310 0
18	0.165 2	0.219 5
19	0.011 3	0.054 3
20	…	0.013 6
观察到的纯合度	19.5%	27.1%
纯合度的期望值	21.3%	20.2%
纯合度检验（P 值）	0.513（$\chi^2=0.427\ 2$）	0.010（$\chi^2=6.527$）

D3S1358 位点的 P 值 >0.5，表示调查的群体样本达到了 HWE；而 vWA 位点的 P 值 <0.5，表示调查的样本未达到 HWE。

（三）似然比检验（likelihood ratio test）

似然比是指 2 种不同条件下事件发生概率的比值。

来自总群体的随机样本，每个个体均有相等的机会被抽样进入调查样本中，因此符合多项式分布。

设调查的样本量为 n，有 n_{ij} 个 A_iA_j 基因型，n_i 个等位基因 A_i，n_j 个等位基因 A_j，则此样本的似然比（L_1）为：

$$L_1 \propto \prod_{i,j}\left(\frac{n_{ij}}{n}\right)^{n_{ij}} \qquad \text{（公式 19－5）}$$

在 HWE 下，似然比（L_0）可以表示为：

$$L_0 \propto \prod_i\left[\left(\frac{n_i}{2n}\right)^{2n_{ii}}\prod_{j<i}\left(\frac{2n_in_j}{(2n)^2}\right)^{n_{ij}}\right] = 2^{He}\prod_i\left(\frac{n_i}{2n}\right)^{n_i} \qquad \text{（公式 19－6）}$$

He 为样本中的杂合子个体数目。

似然比检验又称为 G 检验，适合于等位基因数目较多的 DNA 数据的检验。

$$G^2 = -2(\ln L_1 - \ln L_0) \sim \chi^2 \qquad \text{（公式 19－7）}$$

在 HWE 下，G^2 符合自由度 df = 样本中基因型种数 − 等位基因种数的 χ^2 分布。

例：假设调查一个样本的结果如表 19－4。

表 19－4　一个样本的调查结果

基因型	基因型数目	n_{ij}
AA	1	1
AB	2	2
AC	2	2
BB	3	3
BC	1	1
CC	2	2
合计（n）	11	11

根据前面的定义 $n=11$，n_{ij} = 各基因型数目。该样本中有 3 种不同的等位基因，$i=3$。等位基因 A 出现的次数为 6，$n_1=6$；等位基因 B 出现的次数为 9，$n_2=9$；等位基因 C 出现的次数为 7，$n_3=7$。$He=5$。因此

$$L_1 = (1/11)(2/11)^2(2/11)^2(3/11)^3(1/11)(2/11)^2 = 6.56\times10^{-9}$$

$$L_0 = 2^5(6/22)^6(9/22)^9(7/22)^7 = 1.43\times10^{-6}$$

$$\chi^2 = G^2 = -2(\ln 6.56\times10^{-9} - \ln 1.43\times10^{-6}) = 10.9267$$

$df = 6 - 3 = 3$，查表得，$P = 0.012 < 0.05$，说明该样本未达到 HWE。

三、Hardy - Weinberg 不平衡检验

在作群体样本的遗传学调查分析时，受很多种因素的干扰，得到的群体的基因型频率会偏离 Hardy - Weinberg 平衡。在法庭 DNA 数据的处理中，主要考虑亚群结构对 HWE 的影响。

当群体存在亚群结构时，二倍体的基因型频率计算要用一个遗传学参数 θ 进行校正，θ 通常称为共祖系数。校正计算方法如下：

纯合子 A_iA_i 的频率：

$$P_{ii} = p_i^2 + p_i(1 - p_i)\theta \qquad \text{（公式 19 - 8）}$$

杂合子 A_iA_j 的频率：

$$P_{ij} = 2p_ip_j(1 - \theta) \qquad \text{（公式 19 - 9）}$$

θ 值越大，说明 2 个亚群间的等位基因频率相关程度越高，超过一定值时，不能用 HWE 条件下的公式计算基因型频率。θ 的计算很复杂，请参阅有关的专著，如余碧云等译，Wire BS 著的《群体遗传学数据分析》。美国国家研究院（National Research Council，NRC）推荐，对美国人群，大群体时，$\theta = 0.01$，小群体时 $\theta = 0.03$（参阅本章第三节）。

四、位点间相关性分析

当统计多个位点时，常需分析 2 个位点之间是否有关联，若 2 个位点之间是无关的，可以将 2 个位点基因型的概率相乘（乘积定理，product rule），否则不能应用此定理。因此位点间的关联分析在法庭 DNA 数据处理中很重要。位于不同染色体的位点，或者虽在同一染色体，但相距很远的位点，一般都是无关的，呈非连锁遗传。习惯上，位点间无相关性称为连锁平衡（linkage equilibrium，LE）。

在遗传过程中，当不同基因座上的等位基因不是按随机原则结合时，这些位点之间就被认为处于连锁不平衡状态。

基因座之间是否处于连锁平衡状态，可以通过检验连锁不平衡系数来判定。设有 A 和 B 2 个基因座，每个基因座有若干等位基因的配子处于连锁不平衡状态。等位基因 A_u 和 B_v 的不平衡系数 D_{uv} 可以定义为：

$$D_{uv} = p_{uv} - p_up_v \qquad \text{（公式 19 - 10）}$$

p_{uv} 为 A_uB_v 的概率，p_u、p_v 分别是等位基因 A_u、B_v 的频率。

假设所有的 $D_{uv} = 0$，则得到

$$\chi^2 = \sum_{u=1}^{k}\sum_{v=1}^{l}\frac{nD_{uv}^2}{p_up_v} \qquad \text{（公式 19 - 11）}$$

p_u、p_v 为 A_u 和 B_v 的等位基因频率，k 和 l 分别是 2 个基因座的等位基因数，$df = (k - 1)(l - 1)$。按 χ^2 值，查表得到 P 值，判定这 2 个等位基因之间是否处于连锁不平衡状态。

五、群体间比较

调查表明，不同种族或地区的群体之间，某基因座（或位点）的等位基因或基因型分布可能存在着差异。在计算各种法医学应用的概率时，若不同的群体之间的等位基因或基因型频率资料在分布上有差异时，资料就不能共用。因此，要进行群体间的资料比较，以了解这些资料在群体间的差异，是否具有显著性意义。群体间的比较除了等位基因或基因型频率比较外，有时也包括群体间遗传差异比较，本处主要是指前者。可用 $R \times C$ 列联表（contingency table）进行比较。

1. 群体间的基因型频率比较

例：表 19－5 是 2 个群体 P_1 和 P_2 的 HBCG 位点的基因型计数值，其 χ^2 检验过程如下。

表 19－5　2 个群体 HBCG 位点的基因型频率比较（χ^2 检验）

Genotype	基因型计数（观察值）			基因型计数（期望值）		χ^2	
	P_1	P_2	P_1+P_2	$E(P_1)$ *1	$E(P_2)$ *2	$\chi^2(P_1)$ *3	$\chi^2(P_2)$ *4
AA	46	26	72	39.421	32.805	1.113	1.337
AB	75	61	136	74.347	61.869	0.004	0.006
AC	2	0	2	1.093	0.909	0.756	0.909
BB	19	31	50	27.138	22.583	2.428	2.919
BC	1	1	2	1.001	0.833	1.97×10^{-31}	1.48×10^{-32}
∑	143	119	262			4.304	5.171
						$\sum\chi^2_{(4)}=$	9.475
						$P=$	0.050

*1：$E(P_1)=(P_1+P_2)\sum P_1/\sum(P_1+P_2)$　　*2：$E(P_2)=(P_1+P_2)\sum P_2/\sum(P_1+P_2)$

*3：$\chi^2(P_1)=[P_1-E(P_1)]/E(P_1)$　　*4：$\chi^2(P_2)=[P_2-E(P_2)]/E(P_2)$

$R \times C$ 列联表的自由度 $=(R-1)(C-1)=1\times4=4$

2. 群体间的等位基因频率比较　与基因型频率的比较一样。如某一位点有 4 个群体的等位基因计数，如表 19－6。

表 19－6　4 个群体某位点的等位基因样本计数值

等位基因	群　体				合计
	P_1	P_2	P_3	P_4	
1	54	53	37	51	195
2	32	40	23	45	140
3	31	29	13	49	122
4	66	96	37	47	246
5	62	36	22	12	132
6	11	12	2	6	31
合计	256	266	134	210	866

结果，$\chi^2 = 64.562, df = 15, P = 0.000$，说明4个群体之间的等位基因频率分布有差异，可能存在亚群结构，在各自均符合HWE的前提下，这些频率资料不能混合使用。

第二节　法医DNA数据中常用的参数

一、等位基因和单倍型频率（直接计数法）

1. 单倍型频率　设单倍型 i 在有 n 个单倍型的样本中出现的次数为 x_i，则该单倍型的频率为：

$$p_i = x_i/n \qquad \text{（公式19-12）}$$

2. 二倍体数据　二倍体的等位基因频率：

$$p_i = (2 \times \text{纯合子数} + \text{杂合子数})/(2n) \qquad \text{（公式19-13）}$$

n为样本的个体数。等位基因频率 p_i 的标准误为：

$$SE = \sqrt{p_i(1 - p_i)/2n} \qquad \text{（公式19-14）}$$

二、基因多样性或杂合度

基因多样性（gene diversity）是指某一遗传标记在群体中的变异程度。杂合度（heterozygosity）是指某群体中杂合子的比例，是对二倍体数据的描述，其意义与基因多样性实质上是一样的。基因多样性或杂合度越高，则该遗传标记的法医学应用价值就越大。

由于习惯，两者多用 H 或 h 表示。H 的无偏估计（unbiased estimate）期望值为

$$H = \frac{n}{n-1}\left(1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2\right) \qquad \text{（公式19-15）}$$

n 为样本中等位基因或单倍型出现的总数（如共调查了10个男子，常染色体等位基因的 $n = 20$，Y染色体单倍体的 $n = 10$），k 为等位基因或单倍型的种类数，p_i 系样本第 i 个等位基因或单倍型频率。

对二倍体数据，杂合度的观察值（h）为：

$$h = \text{样本的杂合子个数} / \text{样本个体总数} \qquad \text{（公式19-16）}$$

三、突变率

遗传和变异是并存的，在选用遗传标记做亲子鉴定时，要选用遗传稳定的多态性标记，但是这种稳

定只能是相对的，变异是绝对的。因此，在实际选用多态性遗传标记时要考虑各种遗传标记的突变率（mutation rate）的高低。

一般来说 STR 的突变率 μ 按下列方法估计：

$$\mu = x / n \qquad \text{（公式 19 - 17）}$$

x 为某群体该 STR 位点出现的突变次数，n 为该群体生殖细胞成熟过程中发生的减数分裂次数。

四、偶合率

群体偶合率（population match probability），是指群体中同一种基因型或单倍型在随机 2 个个体中同时出现的概率。它是衡量某个基因座或某一套 DNA 分型技术区分随机 2 个个体能力的一种表示方法。在 2 份生物检材作了 DNA 分型以后，若所检测的项目分型结果都相同，也要计算其偶合率，以衡量在这些分型结果相同的情况下，若假定这 2 份检材是来自同一个体，其结论可能是错误的机会有多高。

对常染色体的单一位点来说，群体中随机 2 个个体所有基因型可能相同的概率为：

$$PM = \sum_{i=1}^{n} (p_i^2)^2 + \sum_{i<j}^{n} (2p_ip_j)^2 = 2(\sum_{i=1}^{n} p_i^2)^2 - \sum_{i=1}^{n} p_i^4 \qquad \text{（公式 19 - 18）}$$

p_i 和 p_j 为群体中 2 个不同等位基因 A_i 和 A_j 的频率。n 为该位点的等位基因数。

对于比较 2 份检材分型结果时，其偶合率的计算则按各基因型频率总乘积的方法进行。

五、个人识别力

个人识别力（power of discrimination，又称 *DP* 值，Fisher 概率），表示检测某一多态性位点能将随机 2 个人区别开来的能力。显然，这个位点的等位基因数越多，等位基因频率分布越均衡，则该位点的个人识别力越高。也可以理解为群体中该位点的基因型相同的概率越低，个人识别力越高。DP 值是衡量某一遗传标记在个人识别中的应用价值。

1. 常染色体的多态性位点的 *DP* 值

$$DP = 1 - \sum_{i}^{n} p_i = 1 - PM \qquad \text{（公式 19 - 19）}$$

P_i 为基因型频率，n 为基因型种类数。

2. X 染色体的多态性位点的 *DP* 值

（1）女性样本：

$$DP = 1 - 2(\sum_{i=1}^{n} p_i^2)^2 + \sum_{i=1}^{n} p_i^4 \qquad \text{（公式 19 - 20）}$$

（2）男性样本：

$$DP = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 \qquad \text{(公式 19 - 21)}$$

公式中 p_i 为等位基因的频率，n 为等位基因种类数。

3. Y 染色体或线粒体的多态性位点的 DP 值

$$DP = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 \qquad \text{(公式 19 - 22)}$$

公式中 p_i 为等位基因的频率，n 为等位基因种类数。

4. 多个位点的个体识别力

$$DP_{(combined)} = 1 - \prod_{i=1}^{n} (1 - DP_i) \qquad \text{(公式 19 - 23)}$$

DP_i 为总共有 n 个位点中第 i 个位点的个体识别率。

六、平均非父排除率

平均非父排除率(average exclusion probability，power of exclusion，PE)是衡量遗传多态性位点在作为亲子鉴定的工具时，能把被指控为生父的随机男人排除掉的概率。因此，若其非父排除率越高，则该位点或系统的亲子鉴定应用价值就越大。

对一个具有多个共显性等位基因的遗传多态性位点，假设使用下列符号表示：

n	等位基因或单倍型种类
$A_i (i = 1 \sim n)$	第 i 个等位基因或单倍型
$p_i (i = 1 \sim n, \sum_{i=1}^{n} p_i = 1)$	第 i 个等位基因或单倍型的频率
PE	非父排除率

1. 常染色体的多态性位点的计算方法

(1)根据母 - 子对的非父排除率

$$PE = \sum_{i=1}^{n} p_i (1 - p_i^2)(1 - p_i + p_i^2) + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} p_i p_j (p_i + p_j)(1 - p_i - p_j)^2 \qquad \text{(公式 19 - 24)}$$

(2) 单亲案时，排除父亲或母亲的亲权排除率

$$PE = \sum_{i=1}^{n} p_i^2 (1 - p_i)^2 + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} p_i p_j (1 - p_i - p_j)^2 \qquad \text{(公式 19 - 25)}$$

2. X 染色体的多态性位点的计算方法

(1)双亲案时的非父排除率

$$PE = \sum_{i=1}^{n} p_i (1 - p_i)(1 - p_i + p_i^2) + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} p_i p_j (p_i + p_j)(1 - p_i - p_j) \qquad \text{(公式 19 - 26)}$$

或者

$$PE = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 + \sum_{i=1}^{n} p_i^4 - (\sum_{i=1}^{n} p_i^2)^4 \qquad (公式\ 19-27)$$

(2)只检测父女的非父排除率

$$PE = \sum_{i=1}^{n} p_i^2(1-p_i) + 2\sum_{i=1}^{n-1}\sum_{j=i+1}^{n} p_i p_j(1-p_i-p_j) \qquad (公式\ 19-28)$$

(3)只检测母女时排除母亲的概率　这种情况下因为女儿和母亲均为二倍体,与常染色体中单亲案时是一样的,用公式 19-25 计算。或者用下式:

$$PE = 1 - 2(\sum_{i=1}^{n} p_i^2) + \sum_{i=1}^{n} p_i^3 \qquad (公式\ 19-29)$$

(4)只检测母亲与男孩时排除母亲的概率　由于男性只有一条 X 染色体,假定男孩的基因为A_i,频率为p_i,则排除亲权关系的母亲不能有等位基因A_i,其概率为$(1-p_i)$,故排除母亲的概率为:

$$PE = \sum_{i=1}^{n} p_i(1-p_i)^2 \qquad (公式\ 19-30)$$

3. Y 染色体多态性位点的非父排除率　假定男孩的单倍型为A_i,频率为p_i,那么排除亲权关系的男子的单倍型则不能为 A_i,相应的概率为 $1-p_i$,因此,Y 染色体的非父排除率为:

$$PE = \sum_{i=1}^{n} p_i(1-p_i) = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 \qquad (公式\ 19-31)$$

4. 考虑常染色体 STR 有可能突变的非父排除率

$$PE(\mu) = \mu[1 - (2 + a_2 - 3a_3 + 3a_4 - 2a_2^2)n] \qquad (公式\ 19-32)$$

其中μ为突变率。

$$a_r = \sum_{i=1}^{n} p_i^r \qquad (公式\ 19-33)$$

$r=2, 3, 4$, p_i 为等位基因频率,n 为等位基因种类数。

5. 多个多态性位点的非父排除率

$$PE_{(combined)} = 1 - \prod_{i=1}^{k}(1 - PE_i) \qquad (公式\ 19-34)$$

k 为位点数，PE_i 为第 i 个位点的非父排除率。

第三节　法医 DNA 分型结果的应用统计分析

法医 DNA 分析的最终目的有二：一是确定被测的 2 份或多份检材是否来自同一个体，这就要对 2 个 DNA 图谱进行比对，如果 2 个图谱相同，那么就要计算这 2 份检材来自同个人的可能性有多大，这就是我们常说的个人识别；二是确定被测的个体之间是否存在亲生关系或有亲缘关系，这就要分析他们之间的 DNA 图谱是否符合遗传规律，如果符合，就要计算亲权概率，以判断是否具有亲生关系。这就是亲子鉴定。

一、应用于个人识别

（一）个人识别中的基本统计方法

当 2 份检材的 DNA 图谱经比对相同时，那么这 2 个 DNA 图谱是否系同一个体的呢？就必须用适当的统计学方法计算，以确定 2 个 DNA 图谱来自同一个体的可能性。

DNA 图谱相同率的计算方法很多，有似然比法和 Bayes 法等，最常用和易于被法庭接受的统计方法是 DNA 图谱概率（profile probability），或称相同概率（match probability），故本节主要介绍此法。

1. 计算方法

（1）单个 STR 位点在 HWE 下的图谱概率　即为各基因型的频率，见公式 19－1 和公式 19－2。

（2）多 STR 位点，处于连锁平衡（linkage equilibrium，LE）下的图谱概率　多 STR 位点的图谱概率等于多个位点的基因型频率相乘，即乘积定律（product rule）。

（3）有亚群结构群体时的图谱概率　在一个大群体有亚群结构时，亚群内婚配比亚群间更常见。它必然导致纯合子的比例过高，并降低杂合度。此时需要用共祖系数 θ 修正代表大群体的基因型频率，计算公式为公式 19－8 和公式 19－9。

有亚群结构的群体中，来自同一亚群 2 个人的 DNA 图谱的图谱概率估计用 Balding 和 Nichols 公式：

$$P(A_iA_i/A_iA_i) = [2\theta + (1-\theta)p_i][3\theta + (1-\theta)p_i]/[(1-\theta)(1+2\theta)] \quad \text{（公式 19－35）}$$

$$P(A_iA_j/A_iA_j) = 2[\theta + (1-\theta)p_i][\theta + (1-\theta)p_j]/[(1-\theta)(1+2\theta)] \quad \text{（公式 19－36）}$$

p_i 和 p_j 为所有亚群的等位基因 A_i 和 A_j 频率的平均值。

（4）有亲属关系（relatives）时的图谱概率　亲缘系数为 θ 的 2 个个体间的同一概率。

纯合子

$$P(A_iA_i/A_iA_i) = p_i^2 + 4p_i(1-p_i)\theta \quad \text{（公式 19－37）}$$

杂合子

$$P(A_iA_j/A_iA_j) = 2p_ip_j + 2(p_i + p_j - 4p_ip_j)\theta \qquad (公式\ 19-38)$$

θ 为亲缘系数(kinship coefficient),在父母和小孩间为 1/4,半同胞间为 1/8,叔侄间为 1/8。

(二)DNA 图谱惟一性(individualization,uniqueness)的判断标准

随着检验位点的增加,2 个无关个体具有相同 DNA 图谱的概率变得越来越小,以致最后可以认为 2 个 DNA 图谱是完全一致的,即这 2 个图谱来自同一个体。因为没有 2 个无关个体的 DNA 图谱会完全相同,除非是单卵双生子。但是偶合率达到多少,才可以认定 2 个 DNA 图谱是来自一个人的呢?

FBI(美国联邦调查局)采用下列规则:如果经过很多基因座的检查,无关的 2 个个体出现完全相同的 DNA 图谱的概率确实小于美国人口的倒数,那么有理由认为该图谱在美国人群中是惟一的。

对无关个体,FBI 假设不同位点的等位基因频率是独立(independence)的,遗传过程中是随机组合的,即达到 HWE 和 LE(连锁平衡),这时可使用 $\theta=0.01$(或 0.03,美国本土人群)进行校正计算。DNA 图谱随机相同概率(random match probability)P 用下列方法计算:

对一般人群来说,杂合子和纯合子的基因型频率分别用公式 19-1 和公式 19-8 计算。

若假设 DNA 图谱所属者与被告系来自同一亚群,则用公式 19-35 和公式 19-36 来计算。

按 NRCII 推荐,一般情况下 $\theta=0.01$,隔离亚群(isolated subgroups)则 $\theta=0.03$。为了避免某些不确定的因素,还作了一些保守的规定:①P 是美国四大人群(African, Caucasian, Asian and Hispan,即黑人、白人、亚洲人和拉丁美洲人)中最大的;②上述结果 P 还要乘以 10;P 系图谱的概率。

那么在有 N 个随机个体的人群中,不能见到该图谱的概率为 $(1-P)^N$,至少见到一次的概率为 $1-(1-P)^N$。如果 P 经上述的保守性修改后:

$$P \leqslant 1-(1-\alpha)^{1/N} \qquad (公式\ 19-39)$$

α 为显著性水平,一般 $\alpha=0.01$ 或 0.05。

可以认为在 N 个人的人群中该图谱是惟一的。若 2 份 DNA 图谱完全相同时,可以认为是来自同一人的。以美国人口 N=260 000 000 计算,99% 可信度的最大 P 值为 3.9×10^{-11};因此,如果 P 小于 3.9×10^{-11},则认为至少在 99% 的可信度该图谱在美国人群中是惟一的。

(三)查找数据库认定嫌疑人

嫌疑人也有可能是从 DNA 数据库中查找发现的。通过数据库查找与现场的样本进行 DNA 图谱的比对,就会产生一个问题:从数据库找到一个与现场 DNA 图谱相一致的可能性究竟有多大?

NRCII 推荐了一个方法[NRC II Report (1996 年) recommendation 5.1]:希望通过 DNA 数据库发现嫌疑人时,其找到的机会就与该库的大小有关,那么可以用随机图谱概率乘以数据库的人数 N。因为数据库越大,找到与嫌疑人相同的机会就越大。这说明在建立 DNA 数据库时,库的数据容量越大越好。

让 M_i 表示数据库中第 i 个图谱和现场标本的分析结果相同,那么在有 N 个人的数据库中不能找到现场样本所属人的事件 M 的概率上限为:

$$P(M) \leqslant \sum\nolimits_i P(M_i) \qquad (公式\ 19-40)$$

$P(M_i)$ 即图谱概率,可按前面的方法计算。例如,数据库中 N 个人均有相同的种族的背景,则:

$$P(M) = NP(M_i) \qquad \text{(公式 19-41)}$$

如果数据库由 n_1 个白人和 n_2 个黑人构成，则：

$$P(M) = n_1P(W) + n_2P(B) \qquad \text{(公式 19-42)}$$

P(W)表示随机白人与现场样本相同的概率，P(B)表示随机黑人与现场样本相同的概率。

(四)实验室误差

在计算同一概率时，应包括实验室及鉴定过程中所发生的误差概率。这种实验室的误差，要求每个DNA实验室有完整和忠实的实验记录，在此基础上经过一段实践的积累可以总结出实验室误差。

二、应用于亲权鉴定

本节中，主要介绍常染色体多态性位点的DNA数据(以STR为主)处理方法，对于线粒体、Y染色体、X染色体的数据，根据概念和特殊的遗传方式，可以得到相应的计算方法。

1. 亲权指数(paternity index，PI)　STR的DNA数据是共显性遗传的数据(虽然存在着等位基因漏扩的问题，但发生较少，或在使用不同引物设计实验中往往可以发现)，因此，其PI的计算要比血型系统简单得多。PI值实质上是2种假设的可能性比值，用LR(likelihood ratio)表示。各种亲权指数的具体计算方法如下。

(1)三联体案件(trios case)　没有发现突变时，用表19-7所列的公式进行。

表19-7　双亲案的LR值(即PI值)计算法(Lee, *et al.* Forensic Sci Int. 2000, 114: 57-65)

G_C	G_M	G_{AF}	$LR(H_1)$	$LR(H_2)$	$LR(H_3)$
A_iA_i	A_iA_i	A_iA_i	$\frac{1}{p_i}$	$\frac{1+3\theta}{4\theta+(1-\theta)p_i}$	$\frac{1}{p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_iA_j $(i\neq j)$	$\frac{1}{2p_i}$	$\frac{1+3\theta}{2[3\theta+(1-\theta)p_i]}$	$\frac{1}{2p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
	A_iA_j $(i\neq j)$	A_iA_i	$\frac{1}{p_i}$	$\frac{1+3\theta}{3\theta+(1-\theta)p_i}$	$\frac{1}{p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_iA_j $(i\neq j)$	$\frac{1}{2p_i}$	$\frac{1+3\theta}{2[2\theta+(1-\theta)p_i]}$	$\frac{1}{2p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
A_iA_j $(i\neq j)$	A_iA_i	A_jA_j	$\frac{1}{p_j}$	$\frac{1+3\theta}{2\theta+(1-\theta)p_j}$	$\frac{1}{p_j(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_iA_j	$\frac{1}{2p_j}$	$\frac{1+3\theta}{2[2\theta+(1-\theta)p_j]}$	$\frac{1}{2p_j(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_jA_k $(k\neq i,j)$	$\frac{1}{2p_j}$	$\frac{1+3\theta}{2[\theta+(1-\theta)p_j]}$	$\frac{1}{2p_j(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$

续表 19－7

G_C	G_M	G_{AF}	$LR(H_1)$	$LR(H_2)$	$LR(H_3)$
	A_iA_i $(i\neq j)$	A_iA_i	$\frac{1}{p_i+p_i}$	$\frac{1+3\theta}{4\theta+(1-\theta)(p_i+p_i)}$	$\frac{1}{(p_i+p_j)(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_iA_j	$\frac{1}{p_i+p_i}$	$\frac{1+3\theta}{4\theta+(1-\theta)(p_i+p_j)}$	$\frac{1}{(p_i+p_j)(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_jA_k $(k\neq i,j)$	$\frac{1}{2(p_j+p_i)}$	$\frac{1+3\theta}{2[3\theta+(1-\theta)(p_i+p_j)]}$	$\frac{1}{2(p_i+p_j)(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
	A_iA_k $(k\neq i\,j)$	A_jA_j	$\frac{1}{p_j}$	$\frac{1+3\theta}{2\theta+(1-\theta)p_i}$	$\frac{1}{p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
		A_jA_i $(i\neq j)$	$\frac{1}{2p_j}$	$\frac{1+3\theta}{2[\theta+(1-\theta)p_j]}$	$\frac{1}{2p_j(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$

注：G_C：孩子的基因型；G_M：母亲的基因型；G_{AF}：争议父的基因型；A_i、A_j为等位基因；p_i、p_j相应的等位基因频率；θ：平均共祖系数(average measured coancestry coefficient)；θ_{AT}：真父与争议父间的共祖系数(coancestry coefficient for the alleged father and the father)；$LR(H_1)$：真父和争议父系无关个体的 LR 值；$LR(H_2)$：真父、争议父和母亲在同一亚群中的 LR 值；$LR(H_3)$：真父和争议父有亲缘关系(alleged father is a relative of the father)的 LR 值。LR 值即是 PI 值

(2)单亲案件　没有发现突变时，用表 19－8 所列公式计算。

表 19－8　单亲案件的 LR 值(PI 值)计算(Lee，*et al.* **Forensic Sci Int.** 2000，114：57～65)

G_C	G_{AF}	$LR(H_1)$	$LR(H_2)$	$LR(H_3)$
A_iA_i	A_iA_i	$\frac{1}{p_i}$	$\frac{1+2\theta}{3\theta+(1-\theta)p_i}$	$\frac{1}{p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}}$
	$A_iA_j(i\neq j)$	$\frac{1}{2p_i}$	$\frac{1+2\theta}{2\theta+2(1-\theta)p_i}$	$\frac{1}{2[p_i(1-2\theta_{AT})+2\theta_{AT}]}$
$A_iA_i(i\neq j)$	A_iA_i	$\frac{1}{2p_i}$	$\frac{1+2\theta}{2[\theta+(1-\theta)p_i]}$	$\frac{1}{2[p_i(1-2\theta_{AT})+\theta_{AT}]}$
	$A_iA_j(i\neq j)$	$\frac{1}{4p_i}+\frac{1}{4p_j}$	$\frac{(p_i+p_j)(1+2\theta)}{2[2(1-\theta)p_ip_j+(p_i+p_j)\theta]}$	$\frac{p_ip_j}{2[2p_ip_j(1-2\theta_{AT})+(p_ip_j)\theta_{AT}]}$
	$A_iA_k(k\neq i,j)$	$\frac{1}{4p_i}$	$\frac{1+2\theta}{2[2(1-\theta)p_i+\theta]}$	$\frac{1}{2[2p_i(1-2\theta_{AT})+\theta_{AT}]}$

注：G_C：孩子的基因型；G_{AF}：争议父的基因型；A_i、A_j为等位基因；p_i、p_j为相应的等位基因频率；θ：平均共祖系数；θ_{AT}：真父与争议父间的共祖系数；$LR(H_1)$：真父和争议父系无关个体时的 LR 值(PI 值)；$LR(H_2)$：真父、争议父和母亲在同一亚群中的 LR 值；$LR(H_3)$：真父和争议父有亲缘关系时的 LR 值。LR 值即 PI 值

(3)各种亲缘关系的 PI 值计算见表 19－9。

表 19－9　不同亲缘关系的单位点似然比计算(Ayres. Forensic Sci Int. 2000,114:107～115)

G_T	LR_1	LR_2	LR_3
AA,AA	$\frac{1}{4}+\frac{1+2\theta}{2[3\theta+(1+\theta)p_A]}+\frac{(1+\theta)(1+2\theta)}{4[2\theta+(1-\theta)p_A][3\theta+(1-\theta)p_A]}$	$\frac{1}{2}+\frac{1+2\theta}{2[3\theta+(1-\theta)p_A]}$	$\frac{3}{4}+\frac{1+2\theta}{4[3\theta+(1-\theta)p_A]}$
AA,AB	$\frac{1}{4}+\frac{1+2\theta}{4[2\theta+(1-\theta)p_A]}$	$\frac{1}{2}+\frac{1+2\theta}{4[2\theta+(1-\theta)p_A]}$	$\frac{3}{4}+\frac{1+2\theta}{8[2\theta+(1-\theta)p_A]}$
AA,BB	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{3}{4}$
AA,BC	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{3}{4}$
AB,AB	$\frac{1}{4}+\frac{1+2\theta}{8[\theta+(1-\theta)p_A]}+\frac{1+2\theta}{8[\theta+(1-\theta)p_B]}+\frac{(1+\theta)(1+2\theta)}{8[\theta+(1-\theta)p_A][\theta+(1-\theta)p_B]}$	$\frac{1}{2}+\frac{1+2\theta}{8[\theta+(1-\theta)p_A]}+\frac{1+2\theta}{8[\theta+(1-\theta)p_B]}$	$\frac{3}{4}+\frac{1+2\theta}{16[\theta+(1-\theta)p_A]}+\frac{1+2\theta}{16[\theta+(1-\theta)p_B]}$
AB,AC	$\frac{1}{4}+\frac{1+2\theta}{8[\theta+(1-\theta)p_A]}$	$\frac{1}{2}+\frac{1+2\theta}{8[\theta+(1-\theta)p_A]}$	$\frac{3}{4}+\frac{1+2\theta}{16[\theta+(1-\theta)p_A]}$
AA,CD	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{3}{4}$

注：G_T：2 个被检验者的基因型；LR_1：被检验的 2 个个体是全同胞与无关个体的似然比；LR_2：被检验的 2 个个体是叔侄、半同胞、祖孙与无关个体的似然比；LR_3：被检验的 2 个个体是第一代堂兄弟与无关个体的似然比。A,B,C,D 为等位基因；p_A、p_B为相应的等位基因频率；θ：共祖系数；LR：PI 值

(4)考虑某位点的遗传为突变时的 PI 计算　亲子鉴定中，若检测了很多位点，只有 1 个或 2 个位点不符合遗传规律，那么就应当考虑这 1 个或 2 个位点在遗传过程可能发生了突变。Ayres KL 用表(19－10)来计算突变情况下的 PI 值。

表 19－10　考虑有突变情况的双亲案的 PI 计算(Ayres. Forensic Sci Int. 2000,114:107～115)

G_C	$G_M:G_{AF}$	LR
AA	$AA:BB$	$\frac{M\delta_{AB}(1+3\theta)}{2[2\theta+(1-\theta)p_A]}$
AA	$AA:BC$	$\frac{(M\delta_{AB}+M\delta_{AC})(1+3\theta)}{4[2\theta+(1-\theta)p_A]}$
AA	$AB:ZZ(Z\neq A)$	$\frac{M\delta_{AZ}(1+3\theta)}{2[\theta+(1-\theta)p_A]}$

续表 19－10

G_C	$G_M:G_{AF}$	LR
AB	AA: $WZ(W,Z\neq A)$	$\frac{(M\delta_{AW}+M\delta_{AZ})(1+3\theta)}{4[\theta+(1-\theta)p_A]}$
AB	AA or AC: $ZZ(Z\neq B)$	$\frac{M\delta_{BZ}(1+3\theta)}{2(1-\theta)p_B}$
AB	AA or AC: $WZ(W,Z\neq B)$	$\frac{(M\delta_{BW}+M\delta_{BZ})(1+3\theta)}{4(1-\theta)p_B}$
AB	AB: CC	$\frac{(M\delta_{AC}+M\delta_{BC})(1+3\theta)}{2[2\theta+(1-\theta)(p_A+p_B)]}$
AB	AB: CD	$\frac{(M\delta_{AC}+M\delta_{BC}+M\delta_{AD}+M\delta_{BD})(1+3\theta)}{4[2\theta+(1-\theta)(p_A+p_B)]}$

注：G_C：孩子的基因型；G_M：母亲的基因型；G_{AF}：争议父的基因型；A、B、C、D、W、Z 为等位基因；p_A、p_B：相应的等位基因频率；θ：共祖系数(coancestry coefficient)；$M\delta_{AB}$：等位基因 B 突变为 A 的突变率；LR：PI 值

若是单亲案发生了上述情况，则应用表 19－11 的公式计算其 PI 值。

表 19－11　考虑有突变情况的单亲案的 PI 计算(Ayres. Forensic Sci Int. 2000，114：107～115)

G_C	G_{AP}	LR
AA	BB	$\frac{M\delta_{AB}(1+2\theta)}{2[\theta+(1-\theta)p_A]}$
AA	BC	$\frac{(M\delta_{AB}+M\delta_{AC})(1+2\theta)}{4[\theta+(1-\theta)p_A]}$
AB	CC	$\frac{(M\delta_{AC}p_B+M\delta_{BC}p_A)(1+2\theta)}{4(1-\theta)p_Ap_B}$
AB	CD	$\frac{(M\delta_{AC}p_B+M\delta_{BC}p_A+M\delta_{AD}p_B+M\delta_{BD}p_A)(1+2\theta)}{8(1-\theta)p_Ap_B}$

注：G_C：孩子的基因型；G_{AP}：争议父或母的基因型；A、B、C、D 为等位基因；p_A、p_B 为相应的等位基因频率；θ：为共祖系数(coancestry coefficient)；$M\delta_{AB}$：等位基因 B 突变为 A 的突变率；LR：PI 值

2. 叔伯指数(avuncular index，AI)　某些案件需确定孩子是否属某男子的兄弟的亲生孩子时，需计算叔伯指数(AI)。叔伯指数是被检验的男子是小孩的叔(伯)父(uncle)与和小孩无关的男子的概率比值。假设一个被检男子与一女子是小孩的父母，它的亲权指数为 $PI=X/Y$，那么

$$AI=(X+Y)/(2Y)=(PI+1)/2 \qquad (公式\ 19-43)$$

AI 也可用于检验假设被检验人与某小孩是父系半兄弟(half brother)，或称为同父异母兄弟。相似地，上述比值同样可以应用于被检人的二级亲缘个体(同父异母兄弟，叔叔和第一代堂兄弟)，其比值等

]

$$(X + 3Y)/4Y = (PI + 3)/4 \qquad \text{(公式 19 - 44)}$$

3. 单倍型数据的 *PI* 值计算　包括母子(女)间的线粒体遗传,Y 染色体的父系遗传,父女间的 X 染色体 DNA 遗传。

$$PI = 1/p_i \qquad \text{(公式 19 - 45)}$$

p_i 为单倍型的频率。

只要是确定为连锁在一起以单倍型方式遗传的,都可以用此公式计算。

参 考 文 献

1 Aitken CG. Statistics and the Evaluation of Evidence for Forensic Scientists. New York: Wiley, 1995

2 Balding DJ, Donnelly P. Inferring identity from DNA profile evidence. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 11 741 ~ 11 745

3 Balding DJ, Nichols RA. DNA profile match probability calculations: How to allow for population stratification, relatedness, database selection and single bands. Forensic Sci Int, 1994, 64: 125 ~ 140

4 Budowle B, Moretti AL, Baumstark DA, *et al*. Population data on the thirteen CODIS core short tandem repeat loci in African - American, U. S. Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans, and Trinidadians. J Forensic Sci, 1999, 44: 1 277 ~ 1 286

5 Foreman L, Smith A, Evett I. Bayesian validation of a quadruplex STR profiling system for identification purposes. J Forensic Sci, 1999, 44: 378 ~ 486

6 Garofano L, Pizzamiglio M, Cesare G, *et al*. Italian population data on thirteen short tandem repeat loci. Forens Sci Int, 1998, 97: 53 ~ 60

7 Lins A. Development and population study of an eight - locus short tandem repeat (STR) multiplex system. J Forens Sci, 1998, 43: 1 ~ 13

8 Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 1987

9 NRC. The Evaluation of Forensic DNA Evidence. Washington: National Academy Press, DC: 1996

10 Stockmarr A. Likelihood ratios for evaluating DNA evidence when the suspect is found through a database search. Biometrics, 1999, 55: 671 ~ 677

11 Weir BS. Genetic Data Analysis II. Sunderland: Sinauer. MA, 1996

12 Weir BS. Are DNA profiles unique? Proceedings of the Ninth International Symposium on Human Identification. Madison, WI. Promega Corp, 1999

13 Bjerre A, Court DS, Lincoln P, *et al*. A report of the 1995 and 1996 Paternity Testing Workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Haemogenetics. Forensic Sci Int, 1997, 90: 41 ~ 55

14 Brenner CH. Symbolic kinship program. Genetics, 1997, 145: 535 ~ 542

15 Desmarais D, Zhong Y, Chakraborty R, *et al*. Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA). J Forensic Sci, 1998,

43:1 046 ~ 1 049

16 Fukuda M, Kishida T, Wang W, *et al*. STR typing in a deficiency case of disputed paternity. Nippon Hoigaku Zasshi,1996,50:422 ~ 426

17 Gunn PR, Trueman K, Stapleton P, *et al*. DNA analysis in disputed parentage: the occurrence of two apparently false exclusions of paternity, both at short tandem repeat (STR) loci, in the one child. Electrophoresis,1997, 18:1 650 ~ 1 652

18 Jorquera H, Cifuentes L, Moreno F, *et al*. Paternity analysis when the putative father is missing: first case in Chile. J Forensic Sci,1999,44:627 ~ 629

19 Tzeng CH, Lyou JY, Chen YR, *et al*. Determination of sibship by PCR - amplified short tandem repeat analysis in Taiwan. Transfusion,2000, 40:840 ~ 845

20 Lee HS, Lee WJ, Han GR, *et al*. Motherless case in paternity testing. Forensic Sci Int,2000, 114: 57 ~ 65

21 Ayres KL. Relatedness testing in subdivided populations. Forensic Sci Int,2000,114:107 ~ 115

22 Reynolds J, Weir BS, Cockerham CC. Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short - term genetic distance. Genetic,1983, 105:767 ~ 779

23 Rousset F. Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation processes. Genetics,1996, 142: 1 357 ~ 1 362

24 Slatkin M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics, 1995,139: 457 ~ 462

25 Weir BS. Independence of VNTR alleles defined as fixed bins. Genetics,1992,130(4):873 ~ 887

26 Ohno Y, Sebetan I, Akaishi S. A simple method for calculating the probability of excluding paternity with any number of codominant alleles. Forensic Sci Int,1981, 19:93 ~ 98

27 Nei M, Roychoudhury A. Sampling variances of heterozygosity and genitic distance. Genetics,1974, 76:379 ~ 390

28 Jones D. Blood samples: probability of discrimination. J Forensic Sci Soc,1972, 12:355 ~ 359

29 Hammond HA, Jin L, Zhong Y, *et al*. Evaluation of 13 short tandem repeat loci for use in personal identification applications. Am J Hum Genet,1994, 55(1):175 ~ 189

30 Graham J, Curran J, Weir BS. Conditional genotypic probabilities for microsatellite loci. Genetics, 2000, 155(4):1 973 ~ 1 980

31 Evett IW, Gill PD, Scrange JK, *et al*. Establishing the robustness of short - tandem - repeat statistics for forensic applications. Am J Hum Genet,1996, 58(2):398 ~ 407

32 Cockerham CC, Weir BS. Estimation of inbreeding parameters in stratified populations. Ann Hum Genet,1986, 50(Pt 3):271 ~ 281

33 Chakraborty R, Meagher TR, Smouse PE. Parentage analysis with genetic markers in natural populations. I. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. Genetics,1988, 118 (3):527 ~ 536

34 Chakraborty R, Smouse PE, Neel JV. Population amalgamation and genetic variation: observations on artificially agglomerated tribal populations of Central and South America. Am J Hum Genet, 1988, 43(5):709 ~ 725

35 Chakraborty R, Jin L, Zhong Y. Paternity evaluation in cases lacking a mother and nondetectable alleles. Int J Legal Med,1994, 107(3):127 ~ 131

36 Brenner C, Morris J. Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes: Valida-

tion and other studies. Proceedings of the International Symposium on Human Identification, 1989 1990, 21 ~ 53

37 Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 1978, 89:583 ~ 590

38 Asmundo A, Crino C. The distribution of DIS80(pMCT 118) alleles in a southern Italian population sample. J Forensic Sci, 1998, 43:911 ~ 912

第二十章 生物芯片技术与法医学应用

许传超 伍新尧

第一节 概论

一、生物芯片发展简介

生物芯片(biochip,亦称为微芯片 micro - chip)是从20世纪90年代初发展起来的一种高新技术。1991年,美国Affymetrix公司Fodor SPA小组报道,他们首次利用照相平版印刷技术(photolithography)在一块玻璃芯片上原位合成多肽链。之后,1994年,该公司制作了第一个DNA芯片。从此,"基因(DNA)芯片(gene chip, DNA chip)"或"DNA微阵列(DNA microarray)"迅速成为科学界的一个研究热点。随着不断研究、开发和改进,又研制出蛋白质微阵列、组织微阵列等新型芯片,生物芯片便是它们的总称。生物芯片的产生和发展得益于生物、化学、医学、精细加工、光学、微电子技术、信息等众多领域的发展,是一项学科交叉性、综合性极高的新技术。其中,分子生物学和微型装置技术2个领域的进步对生物芯片技术发展起到了根本性的推动作用。

自从Watson和Crick(1953年)发现DNA碱基配对的双螺旋结构之后,分子生物学应运而生。各种检测生物大分子的实验方法不断产生,其中,各种杂交手段如Southern blot,Western blot等和核酸扩增技术PCR的应用极大地推动了人类对生物大分子特别是DNA的认识。但这些分子生物学方法大多都是基于"一次实验检测一个基因"的思路,这对于有3万多个左右基因的人体细胞来说,要想全面了解各个基因的表达活性、基因是否有变异,以及要最终能够阐明人类疾病发生、发展的机制,工作量是十分巨大的,一个实验室很难独立完成。随着20世纪80年代中期到90年代初期人类基因组计划(human genome project, HCP)的提出与实施,对分子生物学的检测手段提出了更高的要求。人们迫切需要能用一次实验检测出成千上万个基因的活性或特异性,那么能否像在计算机处理器芯片中集成了成千上万个电子元件一样,制造出一种高集成度的实验设备来满足这种需要呢?于是,便有了制作生物芯片的设想。

微型化技术的发展使得这种设想成为现实。随着计算机信息处理技术、精细加工技术、光学及微电子技术的发展，我们可以对 DNA 和蛋白质在小分子水平（单核苷酸和氨基酸）进行“加工”，按我们的设想合成出 DNA 片段和蛋白质分子，并将这些有机物质固定于一块面积很小的固相载体上，从而制成生物芯片。用这些芯片制作的各种生物分析仪器具有体积小、重量轻、污染小等特点及分析过程快捷、高度自动化、集成化等优越性。在生物芯片技术的研究和开发领域中，美国依靠其强大的科技和经济实力处于领先地位，先后有数十家生物芯片公司成立，部分芯片已投入市场。除了这些公司外，一些著名的大学和研究机构，如斯坦福大学、麻省理工学院和国家实验室也参与到生物芯片的研究中。欧洲和日本的一些企业和学院以及我国清华大学、复旦大学、东南大学、军事医学科学院和中国科学院也开始了这方面的研究。完善的生物芯片技术可广泛应用于临床检验、新药物的筛选、环境质量监测以及司法鉴定等多个领域。预计，生物芯片将为 21 世纪的生命科学发展起到革命性的推动作用。

二、生物芯片的概念与分类

目前关于生物芯片尚无明确的定义。文献中用来描述这一技术的名称很多，如生物芯片（biochip）、微芯片（micro－chip）、微阵列（microarray）、DNA 芯片（DNA chip）、基因芯片（genetic chip）、基因阵列（gene array）等。总的来说，生物芯片就是指通过微加工技术，把成千上万甚至几十万个生命信息（核酸，蛋白质）集成在一块芯片上（1 cm^2左右）而构建成的一种微流体生化分析系统，以实现对细胞、蛋白质、基因及其他生物组分的快速、大信息量的检测和分析。

生物芯片的分类尚无统一的标准，根据其性能与用途的不同，大致可分为两大类：毛细管型芯片和基因探针型芯片。

（一）毛细管型芯片

这类芯片一般是以硅或玻璃作为载体，通过微加工技术，在其上刻出微米级宽度的通道或微型“小池”。这种微细的通道类似于毛细管，在电场的作用下可完成毛细管电泳；这种“微池”则可以进行 PCR 等生化反应。故也有人称此种类型的芯片叫生物化学反应芯片。

（二）基因探针型芯片

通常意义的生物芯片就是指这种形式的芯片。这种芯片可根据需要选用硅、玻璃、聚丙烯酰胺凝胶或纤维素膜及尼龙膜等物质作为载体，用化学方法将一些有机物，如寡核苷酸片段、蛋白质或微型组织切片整齐、有序、高密度地固定到载体表面。这种芯片在使用时主要应用的是生物大分子之间的互补或特异性结合和杂交原理，故称之为基因探针型芯片。根据芯片上固定的物质种类不同，可分别称为基因芯片、蛋白质芯片、组织芯片，现分别介绍如下。

1. 基因（DNA）芯片或寡核苷酸芯片　指在固相载体上固定的是短的核苷酸片段（cDNA 或人工合成的寡核苷酸）。

2. 蛋白质芯片　指在载体上固定的是多肽、单克隆抗体或其他蛋白质分子。

3. 组织芯片　指在载体上固定的是微型组织切片。

不同的芯片用于不同的检测目的，在后文详述。

另外，有人习惯于按芯片的使用目的来分类，如测序芯片、突变检测芯片、药物筛选芯片等。

目前的这种分类是生物芯片技术尚未成熟时的方法，随着科技的进步，相信以上的 2 种芯片会合二为一，称为“芯片实验室”（lab－on－chip），即在一张芯片上将样本的处理、化学反应和产物检测等全部实验步骤组成一条流水作业线。到那时，目前需要几天或更长时间才能完成的实验将缩短到几分钟或十几分钟，从而大大提高了检测效率。可见，生物芯片的应用将为我们全面认识生命现象提供更有力的工具。

第二节　生物芯片技术

生物芯片是一门新兴技术，目前正处于飞速发展时期。芯片的制作工艺日新月异，各种各样的芯片层出不穷。这里从芯片的制备方法、待测样本的处理及芯片信号的检测几方面做一简单的介绍。

一、生物芯片的制备

生物芯片是为了解决原有的分子生物学实验手段耗时、耗力并且效率不高的问题而产生的。传统的一些技术，如PCR，所需样本量较大，一次反应至少需要数小时。再如传统的DNA测序，需经过样本处理，靶DNA片段提取，进行测序反应，反应产物凝胶电泳，结果判读等程序，非常烦琐。DNA测序仪的出现虽然简化了人的工作，但测序仪本身又存在着体积大，造价高等不足。因此，制作生物芯片时就应注意解决这些问题。

首先，需要加快检测速度，这就要求反应系统要微型化。因为根据微型化（microminiaturization）理论，如果某特定系统的空间3个边长都缩成10×时，在其内进行的化学反应或分离的速度就可以加快100×。因为此时微系统中由于距离缩短，分子扩散会产生更好的相容性和热传导；再者，为降低检测成本，需减少试剂用量，这也需要微系统；还有，为提高检测效率，一次实验可获得大量的检测信息，也需要反应系统微型化。这些因素决定了芯片制作的微型化。但是，由于微型化检测系统中的反应信号较弱，需要有高灵敏度的检测仪器或设法增强较弱的反应信号。下面从载体选择、芯片制备、样品制备和信号检测系统选择几方面来详细说明。

（一）载体的选择

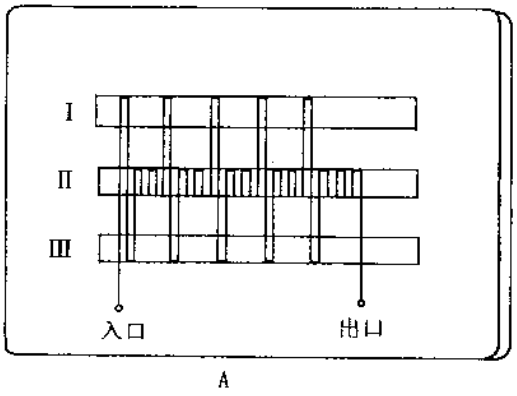
一般来说，制作生物芯片均选用一些刚性支持物以方便操作。半导体硅片、普通玻璃片是比较常用的。对于毛细管型芯片，用激光在载体表面蚀刻出微通道和微槽，根据使用目的不同，应用时在微通道内填充不同的介质如变性的或非变性的聚丙烯酰胺凝胶，用于电泳分离双链或单链的DNA片段，用于PCR的芯片表面须经过特殊处理如硅烷化（silanization），可以避免玻璃表面会吸附反应液中的酶和DNA分子；氧化处理（形成SiO_2）可以避免天然硅抑制PCR反应，导致扩增反应中出现大量的碱基错配。对于基因探针型芯片，其载体要满足下述要求：易于进行表面处理，有较强的结合生物大分子的能力，对芯片上进行的各种反应、如杂交、洗涤所需的反应条件变化有较强的稳定性，适用于一些检测手段如荧光检测。此类载体需在表面进行特殊处理，使其表面上衍生出或结合上一些活性基团如羟基、氨基、醛基或生物素等。这些活性基团可与生物分子上的活化基团共价结合而把生物分子固定于载体表面。这种类型的芯片可选用的载体种类较多，如依据芯片的制作方法的不同可选用硅片、玻片、硝酸纤维素膜、尼龙膜来制作DNA芯片；选用双氟聚乙烯膜（polyvinylidene difluoride filter，PVDF）、聚丙烯酰胺凝胶来制作蛋白质芯片。不同的材料各有其优、缺点，如尼龙膜和硝酸纤维素膜是有孔基质，易使样本中材料扩散，不适合于微阵列的制备，但其杂交反应的精确度较高。而玻璃、硅等材料的一个优势是其表面无孔，因此能使少量的生物材料准确地沉积在预设的位点，可制造出高密度的分子阵列；还能阻抑试剂和样品被吸收进基质内，使得在芯片的制备和使用过程中能快速清除表面的有机物和荧光复合物。这种无孔性表面允许使用小体积的样品，从而有利于使用少量样品即可达到所需的反应浓度，加快杂交的速度；还能使结合表面保持一致，增加阵列单元的质量，做到分析的真正平行。目前，科学工作者正在进行着各种有益的尝试，如Zammatteo N等（2000年）将氨化的DNA探针（aminated DNA）固定到醛基修饰的载体表面，可以创造出既利于固定又利于杂交的效果。相信随着技术的进步，会研制出精确度、集成度均有保证的载体来。

(二)生物芯片的制作技术

1. 毛细管型芯片制备　这里举2个例子来说明这种芯片的制作方法和工作原理。

(1)微型PCR反应芯片　目前,在芯片上进行核酸扩增反应的研究机构有数家。其中,宾夕法尼亚大学研究小组(1996年,1998年)所做的扩增反应都是在硅-玻璃芯片上进行的。他们采用计算机控制来对芯片实行升、降温度,成功地在芯片上完成了一系列不同的核酸扩增反应,如RT-PCR、LCR(ligase chain reaction)、DOP-PCR(degenerate oligonucleotide primer-PCR)等。美国劳伦斯-利物摩(Lawrence-Livermore)国家实验室(1999年)采用的加热方式是内置的薄膜多晶硅加热套,起升降温的速度很快。Perkin-Elmer公司(1997年)是在一块14 mm×14 mm的硅-玻璃芯片上完成核酸扩增的。这里以伦敦帝国科技医药大学Kopp MU等1998年研制的"连续流动-PCR芯片"为例,说明这种微型反应系统的制备方法和工作原理。

"连续流动-PCR芯片"是由加拿大阿尔伯特微电子中心(Alberta Microelectrode Center)制作的。材料是Corning 0211玻璃。芯片包括2块玻璃片,均40 mm×50 mm×0.55 mm大小。一块为载片,在其上刻有40 μm深、90 μm宽的微通道。一块为盖片,在其上有进样孔(内径0.1 mm)通到下面载片上的微通道内。芯片表面须经硅烷化(silanization)处理,以免玻璃表面会吸附反应液中的酶和DNA分子。载片上的微通道在载片上来回折返20次,每次均经过载片上的3个区域;制作时在载体下面镶嵌了3条金属铜片,从而将整个芯片区域分成了三部分(图20-1A)。3条铜片均由5 W的加热管(heating cartridge)加热,有散热片(cooling fin)散热。3条铜片由计算机程序控制分别恒温在99 ℃、77 ℃和60 ℃,分别代表PCR的变性(melting)、退火(annealing)和延伸(extension)温度。这样,当PCR反应液在微通道内流动时,将按顺序流过3个区域,反应液的温度就会随着所到达的区域的温度而变化。反应液在每种温度下保持的时间由微通道在该区域内的折返次数(通道在该区域内的总长度)而定。进行PCR反应时,由微机程控的微型注射器(25 μl)从芯片上方的2个微孔分别泵入反应缓冲液和DNA样本(二者比为0.8:1,总体积10 μl),在反应液向前流动的过程中就完成了PCR扩增反应。最后,扩增产物从右边的出口处被收集用于分析(图20-1B)。Kopp MU等摸索了一系列反应条件,通过控制进样口与出口之间的压力差来控制反应液流速从5.8 nl/s到72.9 nl/s,相应的总反应时间为1.5~18.8 min。从检测结果看,当进、出口的压降为1巴(ba,1 ba=75 cmHg)时,流速15.6 nl/s,20个循环只需4 min,且反应产物量与用传统方法的对照组相差不大。这种芯片技术设备简单,对反应的条件要求不是很高,而且"交叉污染问题"也不明显,故可以重复使用,利于推广。该技术与传统PCR的主要区别在于它改变了传统的反应体系静止、变换外界温度的模式,改为温度不变、反应液流动。这种打破常规的思维是值得提倡和借鉴的。



A

图20-1A　连续流动芯片PCR反应

Ⅰ:melting; Ⅱ:extension; Ⅲ:annealing

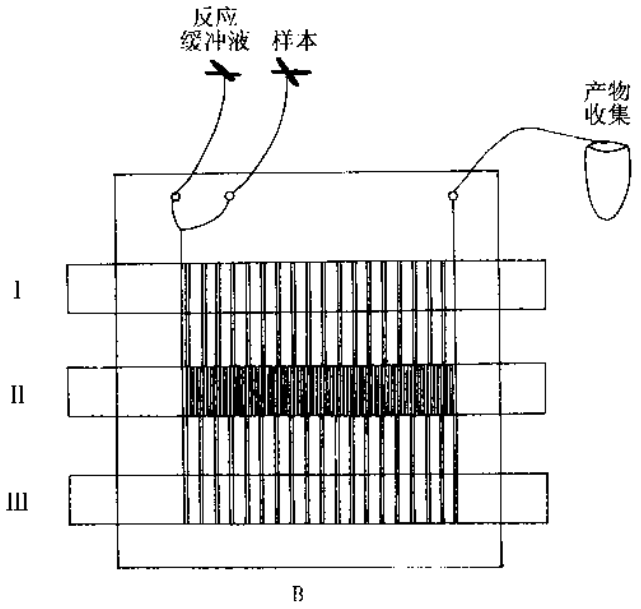


图 20－1B　连续流动芯片 PCR 反应
Ⅰ:60℃；Ⅱ:77℃；Ⅲ:99℃

(2)微阵列毛细管电泳芯片　这种芯片是利用照相平版技术与化学蚀刻技术在芯片载体上刻出多条平行的微槽(30～120 μm 不等)，这些微槽即起到毛细管作用。在这些微槽的两端埋置或蚀刻出电极，根据不同的样本在微槽中填充不同性质的凝胶，即可进行阵列毛细管电泳。Woolley AT 等(1994 年)在一块有效距离只有 3.5 cm 的芯片毛细管阵列上，用 2 min 的时间完成了对 φ×174 的 DNA 经 Hae Ⅲ消化后的片段(72～1 353 bp)的电泳分析。Shi Y 等(1999 年)利用一块刻有 96 道微槽的毛细管阵列芯片在 2 min 之内成功分离了 96 组用不同限制性内切酶处理的 pBR322 质粒 DNA 片段。芯片毛细管电泳的优势在于所需检测样本量很少(50 pg/μl)，且反应速度很快，但反应条件不好控制。

2. 基因探针型芯片制备　研究的目的不同，期望固定的生物分子也不同，因而芯片的制备方法也不同，这里主要以 DNA 芯片为例说明此类型芯片的制作方法。根据将 DNA 片段或寡核苷酸固定到载体表面的方法不同，DNA 芯片可分为 2 类：原位合成(in situ synthesis)的芯片和预合成后点样的芯片。

(1)原位合成的芯片　这种芯片是指利用显微光蚀刻技术(也称做照相平版印刷术 photolithography)或压电打印技术(piezoelectric printing 或 inkjet technology)，在芯片的特定部位合成寡核苷酸而制成的。显微光蚀刻技术是由美国 Affymetrix 公司于 1994 年首先应用于 DNA 芯片的制作中，其基本原理类似于 DNA 自动合成仪合成 DNA 链的原理，只不过是单核苷酸的 5′端用光敏保护基团替代了原来的二甲氧三苯甲基(dimethoxytrityl，DMTr)保护基团。它的制作原理可用图 20－2A 来说明。首先，在合成前，要使支持物表面衍生出活性基团如羟基或氨基，并使这些基团与光敏材料的光敏基团形成共价结合而被保护起来。然后，应用照相平版印刷技术中的光敏罩(photosensitive masks)，并通过计算机程序控制在载体表面有序地合成寡核苷酸。过程如下：先用光敏罩遮住整张芯片，只在特定区域有“缝隙”。当用汞灯光照射芯片，只有该特定区域可接受到光。这个区域内那些结合在活性基团上的光敏基团就会脱落，从而暴露出活性基团。然后，加入某种带有光敏基团的脱氧单核苷酸，后者可与芯片上的活性基团发生结合反应。洗涤之后，应用第 2 个光敏罩遮住芯片，暴露出另外一个待合成的区域，重复同样的反应，只是每次加入的单核苷酸种类不同。如此循环直至合成全部所需的核苷酸分子。循环中每次加入的核苷酸种类是按设计者事先设计好并通过计算机程序来控制的，最终在芯片上的特定区域内就只含有某种特定的寡核苷酸序列。要合成有 X 个碱基长的探针，则需要 4X 步化学反应，合成出 4^X 种

探针分布于芯片表面不同的区域。如图 20－2B，当探针长度为 4 个碱基时，则需 4×4＝16 步化学反应，合成出 4^4＝256 种探针。若要合成 8 个碱基的寡核苷酸链，则需 32 步反应，合成出 65 536 种探针。每种探针在芯片上所在的区域称为一个“位点”（feature），每个位点内可含有多达数百万个相同的探针。根据在合成的过程中使用的照相平版印刷术的分辨率不同，可在单位面积的芯片上合成不同的位点数。如分辨率为 20 μm 时，位点密度为 25 万个/cm^2。可见，用显微光蚀刻法制成的芯片探针密度是十分高的，而且速度很快。但这种方法造价很高，且合成反应产率较低，如合成太长的探针链其合成精确度就不够满意，因此不宜合成太长的探针，以不超过 30－mer 较为适宜。

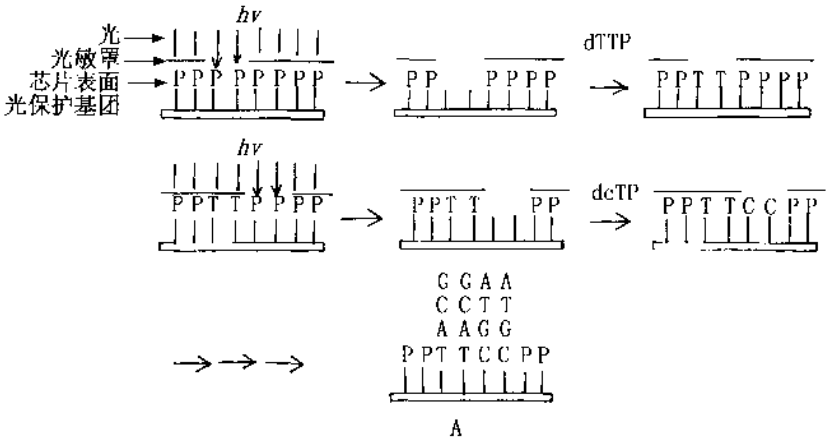


图 20－2A　光刻法原位合成 DNA 芯片

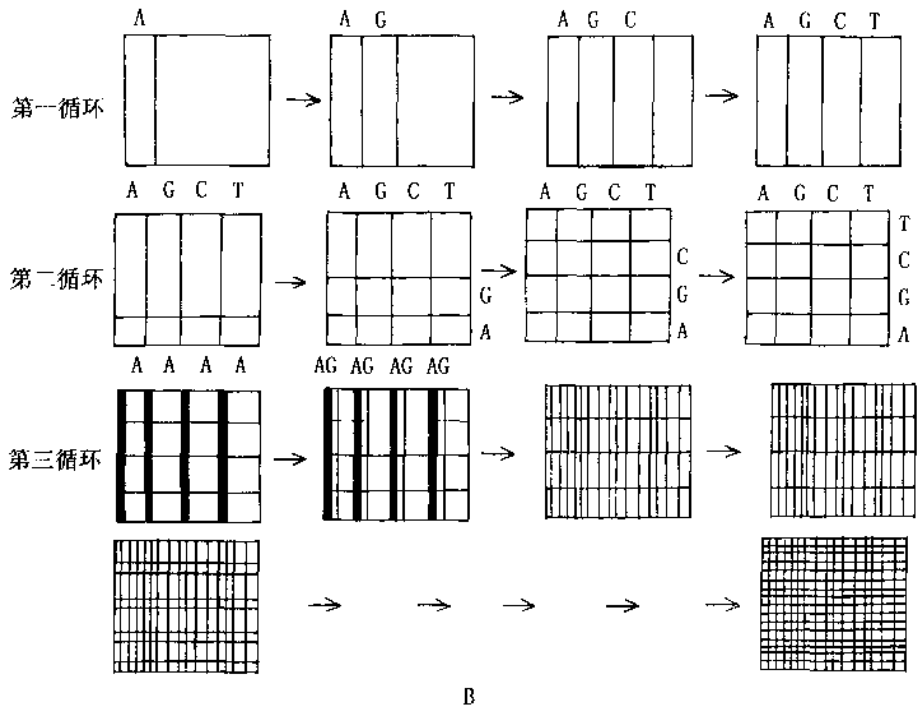


图 20－2B　光刻法原位合成 DNA 芯片

原位合成芯片的另一种技术是美国 Incyte Pharmaceutical 公司（1996 年）采用的压电打印法。这种方法基本原理与喷墨打印机类似，即当打印“头”到达芯片上某特定区域时，便将一支管子（含有 4 种碱

基中一种碱基的合成试剂）中的试剂（约 1 μl）喷到处理过的芯片载体表面上，然后经冲洗、去保护，再进行下一步的合成。这种方法合成的探针长度可达 40～50 mer，但探针密度不如光刻法高。

（2）预合成后点样法　这种方法是将事先提取或用传统的 DNA、多肽合成仪或 PCR 扩增或体内克隆等方法合成好的寡核苷酸、cDNA、多肽或蛋白质通过高速点样机器人或阵列机（arrayer）以较高密度互不干扰地印点于经过特殊处理的玻片、尼龙膜、硝酸纤维素膜上，并使其与支持物牢固结合。支持物也须预先经过特殊处理，例如多聚赖氨酸或氨基硅烷等。亦可用其他共价结合的方法将这些生物大分子牢牢地附着于支持物上。现在已经有比较成型的点样装置出售。根据点样时点样针是否与芯片表面接触，可将点样法分为接触式和非接触式或者称为“打印法”和“喷印法”。“打印”或“喷印”针将生物大分子从多孔板吸出直接“打印”或“喷印”于芯片片基上，“打印”时针头与芯片片基表面发生接触，而“喷印”时针头与片基表面保持一定的距离。所以，“打印”仪适宜制作较高密度的微阵列（例如 2 500 点/cm^2），“喷印”法由于“喷印”的斑点较大，只能形成较低密度的探针阵列，通常 400 点/cm^2。2000 年，日本佳能公司推出 Bubble Jet 喷印技术，降低了喷印点的直径，可提高喷印法的阵列密度。点样法制作芯片的工艺比较简单，便于掌握，分析设备易于获取，适宜用户按照自己的需要灵活机动地设计微点阵，目前多家芯片制作公司均采用这种技术。

还有一种称为分子印章技术（stamp）的合成方法，与上述 2 种方法在合成原理上相同。该技术利用预先制作的“印章”将特定的合成试剂“印”（stamp）到支持物的特定区域。后续反应步骤类似于压电打印原位合成技术。这种技术除了可用于原位合成外，还可以点样方式制作微点阵芯片。1999 年，Lucking A 等人就利用这项技术制作了蛋白质微阵列芯片，用来检测一些特异蛋白质表达水平及分析一些受体－配体之间的相互作用。

二、待测样品的制备

用于芯片检测的 DNA 或 RNA 片段、蛋白或多肽须从生物样本（血样、组织块等）中提取出来并进行扩增和（或）纯化。这个过程在前面所述的毛细管型芯片研究成熟后有望完全“芯片化”。目前，在大多数情况下仍须用传统的方法在体外来实现。

（一）核酸样品

1. 提取与标记　用于分析的 DNA 样品可从总基因组 DNA 或克隆片段中获得，通过酶的催化掺入带荧光的核苷酸；也可通过用荧光标记的引物对靶片段进行 PCR 扩增获得荧光标记 DNA 样品；RNA 样品通常需要先逆转录成 cDNA 并进行标记后才可进行检测。

2. 扩增　为提高检测的灵敏度，多数样本需要在分析前进行适当程度的扩增，常规方法就是 PCR。但在应用 DNA 芯片进行检测分析时，需要对样本中大量的 DNA 片段或核酸分子上大量的区域同时进行扩增和标记，这是一项工作量非常巨大的工作。顺应这一要求出现了许多解决办法。例如，Mosaic Technologies 公司 1998 年开发的固相 PCR 技术，将多对引物固定于丙烯酰胺膜（acrylamide film）上，以类似于原位 PCR 的方式一次性对样本多个片段进行扩增和放大，而且不会由于引物种类过多而出现相互间的竞争和抑制（这种情况常出现于多重 PCR 中）。引物具有较强的特异性，扩增反应也不存在交叉污染，因而省略了处理常规多重和多个 PCR 反应的繁琐工作。1998 年，Lynx Therapeutics 公司引入的大规模平行固相克隆（massively parallel solid－phase cloning）技术，可对一个样本中成千上万个 DNA 片段同时进行扩增（cloning）。然后，这些扩增产物可被连到微珠上（bead，直径 5 μm），每个微珠上只含有一种片段的扩增产物。一次实验可形成约 10^6 个微珠，相当于一个由几十万种不同的 DNA 序列组成的文库。将这些微珠排列成 0.25 cm^2 大小的单层阵列，可同时进行筛选。

（二）蛋白质及其他生物样品

蛋白质等生物大分子在进行检测和分析时，存在的问题是难以对它们进行像核酸 PCR 那样的扩增

和放大。这方面问题可通过提高检测灵敏度及放大芯片反应信号来解决。待分析的蛋白质样本需用荧光素或其他物质进行标记，然后与生物芯片上能与之特异性结合的生物大分子相互作用，洗涤之后，再检测标记物信号，分析样本和芯片上生物大分子相互作用的结果。其他生物大分子的检测和分析类似于蛋白质分子。

三、芯片信号的检测

由于芯片体积微小，在生物芯片上进行的反应如核酸的毛细管电泳分离，以及芯片上的探针与靶序列的杂交，均需要有高灵敏度的信号检测系统进行检测。目前常用的有以下几种检测系统。

（一）激光共聚焦荧光检测系统

该系统主要应用于基因探针型芯片的信号检测。所谓"共聚焦"（confocal）是指激发光（激光）与发射光（荧光）分别在 2 个位置聚焦。如图 20－3 所示，激发光经过分光镜（beamsplitter）后再通过物镜（objective lens）聚焦在样本点上（有些共聚焦扫描仪的激发光是从芯片背后射入）从而诱发荧光，而发射的荧光信号由物镜收集转换成平行光束，然后再次通过分光镜，再通过一个发射光滤光片（emission filter）到达检测透镜（detector lens）。检测透镜将平行的荧光束聚焦在一个共聚焦针孔（confocal pinhole）处，检测器则截取通过针孔的光进行分析。只有精确聚焦在样本表面的激发激光束才能激发待测样本处的荧光，并且只有样本表面的荧光信号才能最终聚焦在共聚焦针孔。这种设计就可以过滤掉非特异性的荧光信号（包括样本表面灰尘及空气中灰尘颗粒的荧光、固相载体基质的荧光、样本背面的污染及扫描系统光学组件的荧光），最大限度地减低本底，使分析图像的清晰度大大提高，能够保证图像和数据达到较高质量。应用激光共聚焦扫描检测系统还可大大提高扫描分辨率，达 5 μm 左右。一般的 DNA 微阵列点的直径在 25～500 μm。所以，这种检测系统特别适用于大范围的杂交测序（sequencing by hybridization，SBH）的信号检测。但这种仪器造价太高，是其难以推广的主要因素。

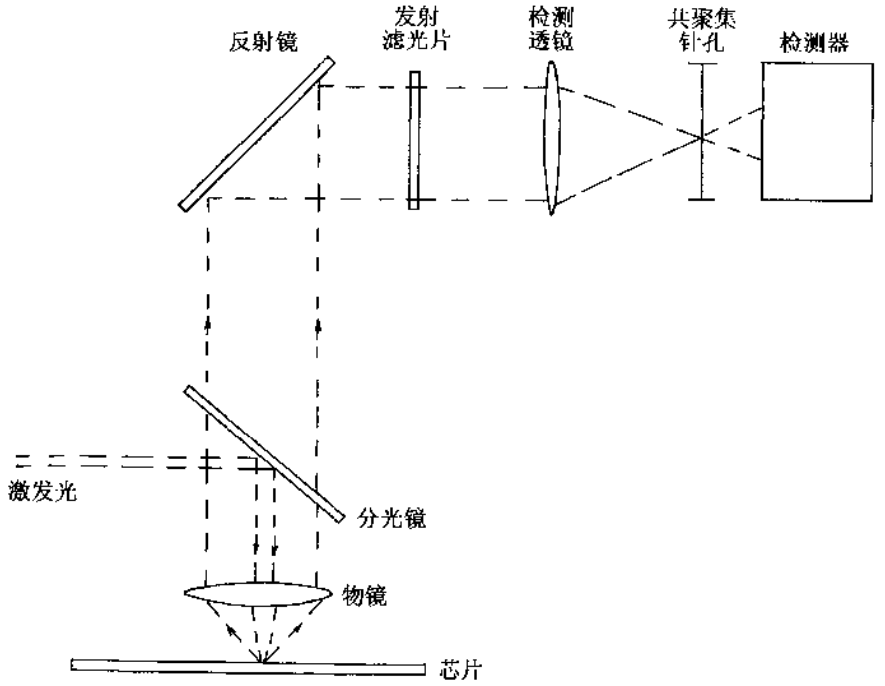


图 20－3　激光共聚焦荧光检测系统示意图

(二)电－耦合器(charge－coupled device,CCD)芯片扫描系统

相对于激光共聚焦扫描仪来说,CCD 芯片扫描仪的结构比较简单。其工作原理可由图 20－4 来说明。激发光光源一般为高压汞灯或氙灯,经激发窄带干涉滤光片滤光后形成单色激发光。芯片表面的样本经激发后产生的荧光经发射窄带滤光片后由 CCD 相机接受并将图像传送到计算机进行分析。CCD 扫描仪每次只能读取一个激发光波长下的图像,分析有多种荧光标记的芯片须经多次扫描,但每次只须更换滤光片即可。利用 CCD 扫描系统的优点有:检测时可同时照明和检测大部分的基质($1\ cm^2$)。这种捕捉相对大范围的能力可以避免移动载物台和门镜,从而可以缩小仪器的体积,降低成本;另外 CCD 检测系统使用连续波长的光源和弧灯,避免使用多个激发器。但 CCD 检测系统的灵敏度和分辨率均不及激光共聚焦检测系统。

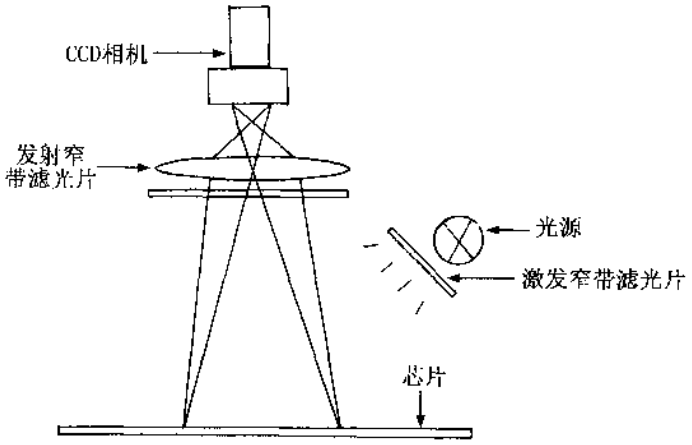


图 20－4　CCD 芯片扫描系统示意图

(三)TaqMan 系统

这套系统主要应用于芯片上 PCR 产物的定量测定。其主要原理是利用 TaqDNA 聚合酶的 5′→3′核酸外切酶活性,对 PCR 产物进行实时定量测定。方法如下:首先设计出"荧光共振能量传递"探针(fluorescence resonance energy transfer, FRET, probe)。这种探针的 5′端标记上一种能发出绿色荧光的"报告"染料(reporter dye),3′端则带上一种"淬灭"剂(quencher dye)。2 种染料的特性是:荧光染料受激发产生的发射光波长范围与淬灭剂的吸收波长范围大部分重叠。当二者的距离不超过 7～10 nm 时,荧光染料受激发所发出的发射光(能量)大部分(95%)会被淬灭剂吸收,转化为热量散发,从而检测不到荧光。FRET 探针不长,一般在 7～25 个碱基,这样就使得 2 种染料的距离足够近,淬火剂可发挥其淬灭功能。而当探针被分解后,报告染料就会远离淬灭染料而不再被淬灭。该探针可与待扩增的靶片段上一段序列互补结合。将这种 FRET 探针在 PCR 反应时与扩增引物同时加入到反应体系中。若待测样本中存在着可与探针特异结合的核酸序列,探针与引物都可以结合到靶核酸序列上,在设计时将探针设计在位于引物的 3′方向。在 PCR 过程中,当 TaqDNA 聚合酶沿模板链向 3′端合成新链时,会遇到结合在模板链上的 FRET 探针。这时,TaqDNA 聚合酶的核酸外切酶活性即可将探针的核苷酸水解掉,探针 5′端的报告染料就会与探针其余部分分离,从而避免了淬灭剂的抑制作用。此时,在 PCR 反应体系中就会存在游离的报告染料,可被激光激发产生绿色荧光。每合成一条新的 DNA 链,就会有一个报告染料释放,PCR 产物越多,反应体系中产生的荧光强度就越强,检测荧光的强度即可推算出 PCR 的产物量。相反,若样本中没有可与探针及引物特异结合的核酸序列,那么 FRET 探针和引物就不会同时结合到靶序列上,也就不会在发生上述 TaqDNA 聚合酶的酶切反应,反应体系中就没有游离的报告染料,也就检测不到绿色荧光的存在。

(四)飞行时间质谱仪

基质辅助的激光解吸/电离飞行时间质谱仪(matrix - assisted laser desorption/ionization time - of - flight mass spectrometry, MALDI - TOF MS)是近年来发展迅速的一种高灵敏度和分辨率的分析仪器,它主要根据不同分子质量的大分子片段在电场中飞行时间的不同来分析生物大分子的组成。目前主要用于蛋白质分析,在分析核酸分子时受到一定限制。这是由核酸分子本身固有特性决定的,即极化的核酸分子在激光解吸过程中易于片段化;核酸分子构象及其所带电荷的复杂性均影响检测的分辨率。Köster H 等尝试了优化一系列实验条件后用 MALDI - TOF MS 对一段 39 bp 的 DNA 链进行 Sanger 法 DNA 测序。ddNTP 末端终止法测序是在固相(比如芯片)条件下进行。测序引物通过生物素 - 链酶亲和素连接固定在磁珠上(可用原位合成法或点样法),加入各种反应试剂进行反应。反应结束后可十分彻底地除去剩余反应物质。将反应中形成的不同长度的核酸链(双链)解析下来,变性后用 MALDI - TOF MS 分析,结果显示,MALDI - TOF MS 能快速、准确地进行序列分析。但检测序列的长度不能太长是其不足。

此外,还有很多芯片信号的检测方法如化学发光法(chemiluminescence)、光纤法(optical fibers)、直接电荷改变检测法(direct electrical charge change detection)等。每种方法都有其优点和不足,主要依据不同的实验目的和条件来灵活选择。

第三节　生物芯片的应用和法医学

正像用于计算机中的微处理器一样,生物芯片自诞生之日起就呈现出广阔的应用前景。毛细管型芯片几乎可用于全部生物样本的处理,基因探针型芯片则可用于分析一切以生物大分子间互补杂交和特异性结合为基础的反应。以下简要介绍生物芯片的主要用途。

一、核酸序列测定、突变检测和多态性检测

(一)核酸序列测定

1. 芯片测序原理　DNA 测序芯片是基于杂交测序法(sequencing by hybridization, SBH)原理。这种方法是 20 世纪 90 年代由英国、俄罗斯和前南斯拉夫的 4 个科研小组同时提出的。即用一组已知序列的寡核苷酸短序列作探针,同待测的靶 DNA 分子进行杂交,然后对那些能够同靶 DNA 形成完全双链分子的寡核苷酸探针之间的碱基重叠关系作比较分析,从而推测出靶 DNA 的核苷酸的序列。我们可通过下面的一个简单的例子来说明。

假设现有一段 10 - mer 的待测 DNA 片段,使其与一组 8 - mer 的寡核苷酸阵列进行杂交。该阵列是由 $4^8 = 65\,536$ 种寡核苷酸片段组成的探针群,包括了所有 8 - mer 核苷酸片段可能的序列排列。将待测 DNA 片段与这样的探针阵列进行杂交,结果只会有 3 种探针能与靶 DNA 片段形成完全互补的双链分子。我们就能根据这 3 种探针之间的碱基序列的重叠关系,推算出靶 DNA 分子的核苷酸顺序。

探针序列　　5′ - G - A - A - C - G - T - G - A - 3′

5′ - A - A - C - G - T - G - A - C - 3′

5′ - A - C - G - T - G - A - C - T - 3′

靶 DNA 序列　　5′ - G - A - A - C - G - T - G - A - C - T - 3′

3′ - C - T - T - G - C - A - C - T - G - A - 5′

2. 测序芯片的应用　测序芯片是最早出现的生物芯片。高通量(high throughput)、快速的进行 DNA 测序是 DNA 芯片的主要特点之一。1996 年,Chee M 等人利用一块固化有 135 000 个寡核苷酸探针(25 - mer/个)的硅芯片上对整个人线粒体 DNA(16.6 kb)进行了测序,其测序精度达到 99%。此芯

片能有效地区分出单个碱基错配。Affymetrix 公司生产的测序芯片，就是将 4^8（65 536）个 8 - mer 的寡核苷酸探针群利用光导原位合成法，在 1 cm^2 左右的芯片上形成的微阵列矩阵。通常 SBH 采用 8 聚或者 20 聚寡核苷酸阵列，与待测样品进行杂交，根据杂交结果推算出样品序列。人类基因组计划已临近尾声，测序芯片可加速这个进程，而且可对已完成的序列进行重测序以勘察错误。另外，测序芯片还可用于多种生物的基因组检测，为我们全面认识生命起源和进化提供有力的工具。未来社会的医疗应该是一种高度个体化的治疗，那时，每人都会拥有一块记录着自己全部基因序列的芯片，可以根据每个个体的自身基因特点来制定保健和治疗措施。

（二）DNA 序列突变和多态性位点检测

许多疾病是和染色体的缺失、插入、重复、易位等变异有关。探明这些突变对这些疾病的诊断、治疗是至关重要的；另外，生物基因组中还存在着许多多态性位点，阐明这些多态性位点有助于了解人类种族的差异、人群迁移、个体差异以及一些遗传易感性疾病的发病机制等。另外，开发出可以灵敏、准确地检测多态性的芯片，对法医学鉴定，如亲子鉴定、个人认定等也有着重要意义。对基因组中突变位点和多态性位点的检测也是基于 SBH 原理。若将上面所述的用于大范围基因测序的芯片叫做通用 DNA 芯片或万能 DNA 芯片（universal array），那么，专门用于检测某些序列突变或多态性的芯片就可称为基因特异性芯片（gene - specific arrays）。相比之下，前者能检测的范围大，后者只局限于检测基因组中一些特定的位点，范围较小；但是，前者在制作时难度大，而且特异性不好。比如，要想在一块芯片上检测人类的基因组全部约 3.0×10^9 个碱基，需要固定在芯片上的寡核苷酸探针数目将是非常庞大的，就很难保证检测的准确度。而基因特异性芯片则不一样，由于检测的范围大大缩小，芯片的制备相对容易。比如，要检测某基因内的突变情况，只需将该基因特异的一系列探针固定到芯片上，然后只扩增出待测序列附近的 DNA 片段来与芯片进行杂交反应即可；再如，要检测一段待测 DNA 序列中某多态性位点属于哪一种类型，只需将该位点特异的一系列探针（如 HLA 各位点的等位基因特异探针）固定于芯片上，通过与待测序列杂交的结果就可以判断出其多态性类型。

二、基因差异表达和肿瘤发生机制研究及基因诊断

根据最新的估计，人类有 3 万多个基因，但并不是在任何时候、任何细胞中，这些基因都会表达的。一个受精卵发育成一个个体的过程中，不同的发育时期，不同的细胞有不同的基因处于表达状态。成熟个体的不同组织细胞内也有不同的基因表达，如胰岛素基因只有在胰岛 B 细胞内才处于表达状态。另外，一些疾病的发生，特别是肿瘤的发生就是因为正常细胞内出现了变异基因或是一些正常基因的表达水平失控而导致的。因此，探明在不同的情况下不同细胞内的基因表达水平的变化对于我们了解胚胎及个体发育、不同组织器官的生理功能、一些遗传疾病及肿瘤的发病机制有着重要的意义。差异显示 RT - PCR（DDRT - PCR）、差减杂交（subtractive hybridization）和抑制差减杂交（suppression subtractive hybridization，SSH）等技术方法可以分析基因的差异表达。这些方法操作起来复杂，费时费力。cDNA 芯片则有明显的优点。比如，欲比较某肿瘤组织与其来源的正常组织之间基因表达的差异，可分别提取二者的总 mRNA，并在进行 RT - PCR 时用不同的荧光标记，如肿瘤组织为红色，正常组织为绿色。然后将二者 cDNA 混合，共同与 cDNA 芯片杂交。分析杂交的结果就可发现，在芯片上只呈现红色的探针区域代表了肿瘤组织特异表达的基因，只呈现绿色的区域代表肿瘤组织表达缺失的基因，呈现混合颜色的区域代表二者共同表达的基因。对这些杂交信号荧光强度的分析可推算出各种基因的表达水平。这样的芯片同样也可以检测一种组织细胞内某些基因的表达水平。由于具有这种显著的优越性，DNA 芯片已被广泛应用于检测肿瘤细胞和正常细胞在 mRNA 水平的差异。1996 年，Hacia JG 等就利用了高密度的寡核苷酸阵列及 2 种颜色荧光标记的探针检测了遗传性乳腺癌和卵巢癌基因 BRCA1 中的杂合性突变（heterozygous mutations），Perou CM 等（1999 年）用 cDNA 微阵列研究乳腺癌细胞基因的表达特点并

检测了γ－干扰素对乳腺癌细胞基因表达的影响。另外，DNA 芯片还可用于不同 DNA 片段间的序列比较分析，尤其是新克隆基因与已知序列的基因比较，如可通过表达序列标签（expressed sequence tags，EST）芯片，检测不同类型细胞中或不同生长发育状态下的细胞中特定基因的表达情况。

三、法医学应用

法医学是分子生物学技术的主要应用领域之一。从 DNA 指纹分析到 STR 位点的分析再到目前正在兴起的 SNPs 分析，从限制性内切酶的应用到 PCR 扩增，到核酸序列自动测定，每一项基因研究成果和分子生物学技术的进展都为法医工作者提供了有力的工具，特别是对物证检验工作。以 DNA 分析技术为基础的各种法医学鉴定，如亲子鉴定、个人识别、种系鉴定等已广泛应用于实践当中。但是，法医学依然面临着许多难题，特别是微量检材和混合检材的个人认定等。基因芯片技术有望帮助我们突破这些难关。

（一）微量检材处理

由于法医鉴定的特殊性，生物样本的处理显得特别重要。经常会遇到检材量太少，用目前的常规检测方法无法进行分析，从而不能为案件的侦破提供线索。样本处理型芯片，即毛细管型芯片可以解决这个难题。因为在微反应体系中，只需很少的样本量即可达到所需的反应浓度，使我们能够进一步扩增样本，将其个体特征检测出来。如进行 PCR 反应时，PCR 反应芯片因所需反应体积小（<10 μl，有时甚至只需 0.5 μl），故所需样本量少；Cheng J 等 1998 年利用芯片进行 DOP－PCR 来扩增人全基因组就是很好的一个例子。他们在 14 mm×17 mm 大小的硅芯片上蚀刻出 115 μm 深的 PCR 反应池，并设计出简并引物 5′－CCGACTCGAGNNNNNNATGTGG－3′（N 代表任意碱基）来进行人全基因组扩增。总反应体积 12 μl，只需 9.6 ng 的 DNA 样本即可得到与传统方法类似的扩增效果。随后，他们又利用多重 PCR 法对该扩增产物进行特异位点杜鑫/伯克肌营养不良蛋白基因（Duchenne/Becker muscular dystrophy，DMD/BMD）的检测，PCR 产物经芯片毛细管电泳（泳道宽 50～60 μm，深 9.7～10 μm）分析，结果与常规方法相比毫不逊色。这种芯片制作成本低，可一次性应用，减少交叉污染；与传统的平板凝胶电泳相比，毛细管电泳检测 PCR 或 LCR 等反应的产物快捷、方便，省时省力，所需样本量少（<1 ul），特别适合法医学微量检材检测的需要。宾西法尼亚大学的 O'Dell DM 等人（1998 年）成功地在切片上原位反转录了细胞中的总 mRNA。之后在显微镜下进行显微操作，用微型手术刀（micromanipulator）单独切下 TUNEL（TdT－mediated dUTP nick end labeling）阳性细胞，将切下的细胞用玻璃微电极小心吸走进行下一步扩增。最后，用一个 cDNA 芯片对扩增产物进行检测，成功检测到了一些凋亡相关基因的表达水平的变化。这种微型化的操作手段给予我们很好的启发。可以预见，未来的法医工作者可从极微量的检材（甚至少到单个细胞）中获取到足够的信息来为破案提供证据。

（二）混合样本分离

在一些性犯罪受害人身上提取的检材往往混有多人的生物样本，如何对此进行分离检测一直是困扰法医的难题。Cheng J 等的实验可提供一些借鉴。1998 年他们利用微型生物电子芯片（microfabricated bioelectronic chips）成功地将混合在全血中的大肠杆菌（E. coli）分离出来，这种芯片结合了芯片介电电泳（dielectrophoretic）技术和电子芯片技术。芯片由 5×5 个白金电极排成阵列。每个电极直径 80 μm，两电极中心相距 200 μm。进行细胞分离时，部分电极加以高电位，另外的加以低电位。2 种电极错落交织分布成“棋盘模式”（checkerboard pattern）。各个电极的电位以 10 kHz 的正弦波形式变换，波峰值为 10 V。这就使得电极之间出现呈规律性变化的电场：在各电极处电场强度最大，而在电极之间的区域电场强度最小。将混有大肠杆菌的血样注入到芯片的微池中，通电 4 min 左右就会将大肠杆菌从血样中分离出来：大肠杆菌都聚集在电极表面，而血细胞则处于电极之间的区域。这是由于在变化的电场作用下，在不同的细胞内诱导出不同的电偶，从而使不同的细胞受到不同的介电力作用。维持电

场不变，用分离缓冲液清洗芯片，可将电极之间结合松弛的血细胞洗脱，这样就完成了2种细胞的分离。之后，再在电极上通以500 V，波宽为50 μs的电脉冲，共400个脉冲，将电极表面黏附的大肠杆菌裂解。然后用蛋白酶K消化裂解产物，最终的混合液中就含有保存完好的大肠杆菌的DNA和RNA。稀释后的裂解液可转入电子芯片中进行分析。分析过程使用的是"夹心杂交法"(Sandwich hybridization)。即预先在芯片表面固定好特异性探针(捕获探针 capture)，该探针能与靶序列的一部分结合(不是全部)。当待测样品中的靶序列被这些固定的探针捕获后，再加入第二个带标记的报告探针(reporter)，这个标记探针能结合到靶序列上剩余的部分。检测第二探针上的标记信号即可了解杂交情况。这种方法无须对样品进行标记，且特异性较好。这样的芯片还可以用来分离肿瘤细胞与血细胞。这些都提示，不同来源的细胞具有不同的特性，可以利用这种差异来找到有效的分离方法。比如，阴道上皮细胞与精子细胞表面会存在着一些各自独特的表面标志，如果我们把能用类似的方法分离混合检材中的2种细胞成分，就可以分离纯化各自的DNA进行检测。

(三)STR及SNPs位点的检测

短片段重复序列STR位点的检测在法医学鉴定上已被广泛利用到如亲子鉴定、个人认定等方面。STR分型试剂已经商品化。但以凝胶电泳条带来判读结果的方法有一定的不足，比如，当STR位点上存在着单个碱基的变异很难区分出来。Radtkey R等(2000年)介绍了利用匹配/错配的DNA双链碱基间的堆砌力(base staking)不同，采用"夹心杂交法"在电子激活DNA芯片(electronically active DNA micro-chip)上快速、准确地完成STR分型的方法。具体方法如下：根据待检测的STR位点(他们选用了常用位点TH01、CSF1PO、TPOX)两侧的保守序列设计出一系列捕获探针(capture)和带标记的报告探针(reporter)，即捕获探针的5′端和报告探针的3′端分别是与待测位点3′端及5′端保守序列互补的序列。报告探针的5′端带上相应位点一定数目的重复单位(如TH01位点的核心序列TCAT或ACTA)。但在不同的捕获探针的3′端则带上不同重复次数的该重复序列。这样，报告探针与不同的捕获探针组合就可形成含有不同重复次数核心序列的长链。在芯片准备时，先设法将不同的捕获探针固定于芯片上不同电极的表面渗透层上，如在电极表面的渗透层内加入链霉亲和素(streptavidin)，而捕获探针的5′端标记上生物素(biotin)。将某种捕获探针(如含4个重复单位的探针)加入到芯片表面，然后在某电极上引入正电压，可使捕获探针聚集到该电极表面，通过streptavidin-biotin的结合将这种捕获探针固定于该电极表面渗透层上。检测时，先在芯片外将待测位点(target)扩增出来，然后在芯片上进行捕获探针-靶序列的电子杂交(electronically hybridized)：对每个电极通以1.6 mA的电流，并以19 ms+/12 ms-的频率变换，共3 min。这样可使得杂交速度大大提高。之后进行洗涤，接着加入报告探针，孵育3 min。再次洗涤后，对芯片信号进行初始检测。然后再在变性温度(30~40 ℃)下进行洗涤、扫描信号，反复数次。最后，根据最终的扫描信号和洗涤前后芯片上信号变化情况就可准确地判断出待测样本中STR位点分型及哪些芯片位点处曾发生了错配。整个实验中杂交的温度、洗涤时间、洗涤液离子成分、pH值、洗涤温度等均要严格控制。此实验的原理是：只有完全配对的DNA双链分子才是最稳定的。若有哪怕是一个碱基的错配，都会因为碱基间的堆砌力减弱而影响双链的稳定性。例如：芯片上有A、B、C 3个电极位点，相应的捕获探针3′端分别带有检测位点(比如是TH01)的4、5、6个重复单位；报告探针5′端带有一个重复单位。若待测序列含6个重复单位，得到的杂交结果就会是：A位点处，待测序列结合到捕获探针上后，其5′端的保守序列及2个重复单位还呈单链状态，无互补序列。随后的报告探针结合到靶序列上后，捕获探针3′端与报告探针5′端之间会有一段4个碱基的"沟"(gap)；C位点处，捕获探针与报告探针间则有一段4个碱基的"重叠"(overlap)；只有在B位点处，捕获探针的3′端碱基与报告探针5′端碱基正好并列。只有这种情况下的DNA双链才最稳固，可经受住严格的洗涤。通过不同的捕获探针和报告探针的设计，这样的电子芯片还可很准确地检测STR位点中一些常见的变异，如检测TH019.3[$(TCAT)_4CAT(TCAT)_5$]时，可将捕获探针3′端的重复序列设计成$(TCAT)_4CAT(TCAT)_4$，报告探针的5′端含1个重复单位，二者结合即可检测到待测序列中是否有该变异存在。Radtkey R等检测了

12 份标本，结果与常规方法 100% 吻合，说明这种方法的可靠度。另外，我们可以考虑在反应体系中加入连接酶（ligase），用连接酶链反应（ligase chain reaction，LCR，后文有详述）法进行检测，灵敏度及准确性会更好。

近年来，单核苷酸多态性 SNPs 的检测越来越引起法医界的重视。但用常规方法对其进行检测也有灵敏度和特异度的问题。一些研究人员进行了这方面的探索。如 Armstrong B 等 2000 年开发的悬浮阵列（suspension arrays），可以灵敏地进行多位点 SNP 检测。他们在许多微球（microspheres）上分别固定了不同的特异性探针，不同的微球标记以不同的荧光素。将待测位点附近的序列通过 PCR 扩增出来，同时标记上不同的荧光素。接着，把微球直接放入待测样本溶液中进行杂交。通过调整探针长度及靶序列浓度，可获得满意的杂交效果。杂交产物用普通的流式细胞仪进行分析，即可准确地判断出待测 SNP 位点的类型。Gilles PN 等（1999 年）利用电子芯片精确地检测 SNP 位点。Schmalzing D 等（2000 年）的芯片电泳实验可快速进行 SNP 检测。这些探索都为芯片技术在法医中的应用做了有益的尝试。

（四）全人口基因档案

2000 年 4 月 21 日，英国纽卡斯尔地区发生了一起凶杀案，一名 23 岁的女大学生被害。凶手留下了足够的 DNA 可供检验，但如何根据 DNA 特征来找出凶犯呢？当案情受阻时，警察做出了惊人的决定：检测附近地区的 10 000 名男子的 DNA 样本。人们虽然积极配合并由检测结果排除了多个嫌疑人，但凶手最终并未找到。这件事情提示我们，建立一个我们可以只凭检材分析就可以确定嫌疑人的“居民 DNA 特征档案”是很有必要的。这件工作最先起始于英国（1995 年），目前，该国的“全国 DNA 数据库”（national DNA database）内已存有 800 000 例数据，每例包括一个人的 10 个 STR 位点的信息。美国于 1998 年开始建立全国 DNA 数据库系统，即联合 DNA 检索系统（combined DNA index system，CODIS）。今后，我们可以利用芯片技术，特别是 SNPs 或 STR 检测芯片来快速获得足够代表一个个体的 DNA 信息，从而大大加快数据库的建立。相信法医界对此会有足够的重视。

四、其他方面

（一）病原微生物诊断

用于检测病原微生物的芯片较多，有 DNA 芯片，也有蛋白质芯片。前者就是应用寡核苷酸或 DNA 片段作为探针固定于芯片上以检测样本中是否存在某种病原体的特异基因组序列以诊断疾病；后者则类似于传统的 ELISA 法，可认为是缩微的 ELISA 实验板，将不同病原体的特异抗原或抗体布于芯片上排成阵列，可一次性检测一份样本如病人血清中多种指标。做这方面工作的有俄罗斯科学院和美国阿贡实验室 Pavel Arenkov，Gemmell A 等，他们联合研制了蛋白质芯片用于临床免疫检验。Edman CF 等也利用芯片技术进行了病原微生物的鉴定。另外，生物芯片还可以帮助建立各种病原微生物的基因组文库。

（二）环境监测

生物芯片还可以用于快速检测环境中污染的微生物种类及环境中各种有害物质对各种生物包括人、动物和植物的危害。有很多证据表明，随着工业社会的发展，人类一些疾病特别是肿瘤的发生率显著提高就是与日益严重的环境污染密切相关的。环境中的各种变化都会引起细胞发生基因表达谱的改变，DNA 芯片正可以高效、快速地监测这种改变。Amundson SA 等利用 cDNA 芯片研究了放射性辐射及有机毒剂对人骨髓细胞基因表达谱的影响。Jelinsky SA 等利用 DNA 芯片研究一些可引起 DNA 损伤的化学试剂对酵母细胞基因表达谱的影响。预计在“环境基因组计划”的实施中，生物芯片还可以用于大规模的筛选保护基因，制备可防治危害的基因工程药品。

（三）药物筛选

越来越多的证据表明：基因表达的改变可能和某些人类疾病的发生相关。利用芯片分析疾病组织

可以鉴定出疾病中表达发生改变的基因。许多小分子物质(如一些药物)也在整体水平上改变基因表达,因此在疾病状态添加小分子物质可能改变基因的表达,从这些改变中可获得关于这类物质的有用的信息,而它们很可能对治疗这种疾病是有效的。同时,利用芯片技术能在基因组水平进行快速的基因表达检测和序列分析,这一信息将影响到新药研究过程中的许多方面。如 Wilson M 于 1999 年利用包括了 97% 的结核分支杆菌基因组 ORF 序列的寡核苷酸片段制成 DNA 微阵列,用来检测异烟肼对结核杆菌基因表达的影响。DeRisi J 等于 2000 年利用 cDNA 芯片探讨了酿酒酵母菌(saccharomyces cerevisiae)产生抗药性的机制。许多药物可能对基因表达产生特殊的影响,这与该药物的作用方式相关,利用芯片在基因组水平分析基因表达,这对于了解许多药物的作用机制是非常有用的。

另外,根据基因组中所有基因的完整序列能够推出它们所编码的所有基因产物的序列,由于大多数药物都作用在蛋白质水平,阻断或改变蛋白质的功能,因此完整的基因组序列就能提供一个生物体所有药物的作用靶。药物基因组学能在一开始就提供所有可能的药物靶,大大地加速新药的发现。

基因组和药物发展的相互影响表明微阵列在药物基因组学的其他方面也有重要作用,包括先导化合物筛选、优化,毒性分析,药效学和药物的疗效,微阵列分析结果结合临床信息,将加速新药研究的速度。

第四节 几种新型生物芯片

生物芯片自出现之日起,便以日新月异的速度发展起来。以上介绍的是传统的生物芯片,近几年在传统芯片技术的基础上已开发出许多新型芯片并被冠以不同的新名称。这里简要介绍几种。

一、流过式芯片

流过式芯片(flow - thru chips)是由 Gene Logic 公司 1998 年开发的一种芯片。他们在芯片载体上制成格栅状的微通道,将寡核苷酸探针以共价键结合于微通道内壁的特定区域。让分离并标记好的 DNA 或 RNA 样本流过芯片上的微通道,固定的寡聚核苷酸探针就可以捕获互补的靶序列,再通过相应的信号分析系统分析结果。这种芯片大大提高了和寡核苷酸探针接触的表面积,所以其灵敏度足以探测稀有基因表达上的变化。芯片上的微通道加快了杂交反应的速度,减少了每次检测的时间。寡核苷酸探针与通道壁是共价结合,芯片可以重复使用。每次探测后,可以洗去杂交物质,这样可以大幅度地节省测试费用。

二、生物传感器

生物传感器(biosensor)是伴随着生物芯片技术而发展起来的新兴技术。是一种能将目的生物大分子的存在转变为可检测分析的电、光等信号的传感装置。依据结构,生物传感器可分为 2 个组成部分:分子识别元件和信号换能元件。前者是一种含有能够识别某种特定生物分子的装置,如识别酶蛋白、抗原抗体蛋白、细菌及核酸分子。后者主要是电化学或光学检测元件,如电位计、热敏电阻、压电晶体以及光纤等。当待测物与识别元件特异性结合后,所产生的复合物或所发生的化学反应可引起一系列理化因素的改变,如光、热和电位的改变,这些信号经换能器转变成可测量、分析的电信号或光信号,从而达到分析检测的目的。传感器与芯片的不同在于前者的应用目的比较专一,后者着重于高通量、高集成度的分析大量信息。

根据分子识别元件的种类不同,可将生物传感器分为酶传感器、抗原抗体传感器、受体传感器、DNA 传感器等。不同传感器识别目的分子的机制不同,如酶传感器是利用酶的专一性和催化性,检测识别过

程中反应动力学变化;DNA 传感器是利用分子间的特异亲和性,检测识别过程中热力学平衡的结果。再根据检测手段或者说换能元件性质,又可将生物传感器分为电化学传感器、光学传感器、压电式传感器等。以 DNA 传感器为例,就有电化学 DNA 传感器、光纤 DNA 传感器、荧光 DNA 传感器、压电晶体式 DNA 传感器。它们都是用类似于 DNA 芯片的固定方法将 DNA 探针固定于传感器探头表面,然后与待测物中互补序列进行杂交,杂交信号可通过加入一定的杂交指示剂对信号进行转换和放大,把杂交上的 DNA 含量显示出来。杂交指示剂是一种可与单链 DNA 和双链 DNA 以不同方式结合的物质。如在电化学 DNA 传感器中应用的有电化学活性的指示剂道诺霉素(daunomycin)等,可嵌入到双链 DNA 分子的大、小沟槽内,但对单链 DNA 分子只有静电作用,无法嵌入。这 2 种结合方式在电场的作用下会产生不同的电流变化,从而可判断出探头上的杂交状态。检测灵敏度可达 10^{-13} g/ml 数量级。生物传感器与生物芯片一样呈现出广阔的发展前景。

三、电子芯片

Nanogen 公司于 1996 年研制出的一种新型电子芯片(electronic chip)。这种微芯片同时利用了微加工工艺和微电子技术,由电场快速引发杂交反应,被称做主动微电子装置。芯片一般以硅/二氧化硅等作为载体材料。在载体内埋置有整齐的微电极阵列。每个微电极表面铺有渗透层,内含一些活性基团如链酶亲和素。通过对加在不同微电极上的电压的改变,微电子芯片能调控带电试剂和待分析分子(如 DNA、蛋白质和细胞等)转运至装置芯片表面的特定位点处或从该处转运出来。比如,DNA 分子在溶液中带负电荷,若我们在某微位点加以正电压,那么,DNA 分子就可以定向转移到该位点。若该 DNA 分子是生物素标记的寡核苷酸探针,则在电场的作用下探针可到达芯片上指定的位点,电极表面渗透层内的链酶亲和素就能与生物素标记探针结合,从而将探针固定在该位点。未导入电压或导入负电压的位点则不能结合捕获探针。在进行杂交反应时,微电子 DNA 芯片能以主动和被动 2 种方式进行杂交反应。当样本中靶序列浓度较低时,应采用主动电子过程以加速杂交速度,减少整个实验所需时间。具体方法是:当在微电极阵列上某待检位点下方的微电极导入一个正电压后,它将使带负电荷的核酸分子向该位点处快速转运和浓缩,样本中可能存在的靶序列就会被转运至该位点并被浓缩。接下来,靶序列就可杂交到该位点的核酸探针上。与被动杂交反应需要几小时相比,电场产生的这种浓缩效应促进杂交反应的进行,在微检测位点处靶 DNA 的快速浓缩大大减少了杂交反应时间,它仅需几秒钟。DNA 的转运和定位过程在含不同 DNA 捕获探针的检测位点处相继进行,并允许对单个样品进行多次而快速的分析。反过来,当逆转电极表面的电场极性时,就能使该位点已形成的杂交异源二聚体发生解链,脱下的单链 DNA 片段可从检测位点脱离,这个过程叫做电子严谨性控制,对整个杂交反应的特异性和灵敏性非常重要。

点突变或单碱基突变检测对遗传学和临床诊断研究的许多领域来说尤其重要。例如,对单核苷酸多态性(SNP)的分析会给出关于疾病诊断的信息,并能帮助预测一些药物或治疗方案对一些特殊病例的有效性或毒性。许多癌相关基因(如 myc,ras,p53)都是由点突变激活的,而许多遗传病也归因于点突变(如镰刀型红细胞贫血症,β-地中海贫血)。与常规 DNA 芯片相比,微电子 DNA 芯片用于单碱基突变分析有很大的优越性。如在一组同时含有匹配/错配杂交对的检测位点处导入一负电压,将电场强度调整到适宜水平,就可以克服 DNA 杂交的结合力以使其分解成单链。当电场强度增强到刚能克服错配 DNA 双链的结合力水平而低于匹配的杂交链解链所需的水平时,就能使错配双链解链并转运出检测位点,检测该位点的荧光信号就可以判定该处的杂交反应碱基配对的情况,从而鉴定出哪些探针/靶序列杂交对(碱基对)发生错配。用微电子 DNA 芯片进行单碱基突变检测分析仅用 20~30 s;而常规杂交分析有时却需几个小时才能得到同样的结果。

四、细胞分离及核酸分析集成芯片

这种芯片将样本处理及化学反应集成在一起，是朝着“芯片实验室”方向前进的重要一步。这方面的研究很多，每种新型芯片无不体现出设计者精妙的构思，比如前面已经介绍过的用于分离细菌和血细胞的微型生物电子芯片。这里再简要介绍一个有代表性的例子。

1998 年，宾夕法尼亚大学的 Wilding P 等研制出“堤堰式滤器芯片”（weir - type filter chip）。他们在 1.4 cm × 1.7 cm 大小的硅芯片（表面经处理成二氧化硅）上蚀刻出一个微池（microchamber），池内排布着一排排硅坝（silicon dam），芯片表面盖上一块表面光化处理的耐热玻璃片（surface - polished pyrex glass）。微池内的硅坝顶端与玻璃片之间构成 3.5 μm 宽的缝隙，从而起到过滤的作用，即只有小于这个尺寸的细胞才可通过，大细胞则被阻挡或者说被“滤”下来。他们称这种芯片滤器为“堤堰式滤器”（weir - type filter）。接着，他们用这种滤器进行血细胞的分离。用一注射泵缓缓注射 3.5 μl 的全血入芯片内，体积小的红细胞可从缝隙流过，而体积较大的白细胞则被阻挡。用 PBS 缓冲液冲洗，直至所有红细胞全部“滤过”。整个过程可用显微镜监视。这样便实现了快速分离血细胞。接下来可注入 PCR 反应缓冲液，并将芯片置于一个称为珀尔帖（Peltier）的热冷装置上，直接在同一环境下进行 PCR 反应。在热循环的开始先使温度维持在 94 ℃ 5 min 以使被滤下来的白细胞溶解并释放出核酸物质。最后，PCR 的反应产物可被收集进行毛细管电泳分析。Wilding P 等利用这种方法得到的 PCR 产物分析了一段 202 bp 的肌营养不良蛋白基因（dystrophin gene）第六外显子序列，获得了满意的效果。

五、珠光芯片

珠光芯片（bead - based fiber - optic array，BBFOA），也称为自组装珠芯片（self - assembled bead array），是 Walt David R 等人在 1996 年由他们报道的光纤传感器的基础上改进而成。实际上也属于传感器范畴。芯片由 5 000 ~ 50 000 根微细光纤组成，3 ~ 7 μm/根，总芯片直径为 300 ~ 1 000 μm。这些光纤可以不衰减的形式传导光信号，就像电话线、互联网连接线路一样。光纤之间有衬里（cladding）隔开，各光纤之间不会互相干扰。在芯片的远端，可用化学物质如氢氟酸（hydrofluoric acid）将末端蚀刻出许多小窝（well），小窝深约 2 μm。每个小窝下方正好是一根光纤的远端，每个小窝内的光信号可由一根光纤传导。这样，芯片的末端就像昆虫的复眼一样。不同小窝内的光信号传导到芯片的近端，可组成一个多象素的图像（每根光纤的信号可看做一个象素）。用 CCD 相机摄取图像并输入微机处理分析，即可达到分析芯片远端信息的目的。将芯片远端浸入到含有大量微球（microspheres）的溶液中，芯片上的众多小窝可由微球填充，每个孔一个。微球一般为乳胶（latex）或硅（silica）球。每个微球标记上自身特异的单一的荧光素，可由相应波长的激光激发出特异波长的荧光。这样，在芯片的近端就可根据每根光纤传过来的荧光信号来判定该光纤远端的微球种类。每个微球再带上一种特异的探针（可原位合成或点样固定），就构成了珠光芯片。由于芯片上的微球是靠自组装嵌入小窝内的，故每个新制作的珠光芯片都要进行一系列的测定以确定各种微球在芯片远端的排列阵势，称为“光栅码”（optical bar code）。确定好光栅码的珠光芯片就可以用来检测 DNA 序列了。这种芯片的优点很多，比如检测灵敏度高，可达吉（普托）摩尔（zeptomoles 10^{-21} M）；光纤可弯曲，可将芯片插入待测样品溶液中而不用将样品加到芯片表面；芯片可重复使用，它可经受 100 次杂交、去杂交循环，而检测信号只衰减不到 2%。但它也有明显的不足，就是每个芯片上的探针种类是随机的，故每个新制的芯片都须鉴定其光栅码，并采用自己配套的分析软件。

六、组织微阵列

组织微阵列(tissue microarrays)是指将大量微小的组织切片高密度地固定于固相载体上,排成阵列。然后用探针或抗体与之进行杂交,以观察不同组织或同一组织不同状态下基因或蛋白表达水平的变化。如 Schraml P、Kononen J 等于 1999 年构建的出 17 种不同肿瘤来源的组织微阵列。他们在一张玻片上排列了将近 400 个肿瘤组织的切片,并进行了荧光原位杂交(FISH)。这种技术可以平行分析大量的组织,克服了以往不同批的实验之间可比性较差的缺点,在肿瘤发生机制研究、临床诊断分期、分级等方面有着广阔的应用前景。

第五节 存在的问题

尽管生物芯片的优点很多,但它毕竟还很年轻,尚有许多技术上的问题,阻碍了它在实践中的广泛应用。尤其是 DNA 芯片,它无法克服单链 DNA 样品自身形成的二级及三级结构对杂交作用的干扰效应,对错配碱基双链体的辨别不够灵敏,使得芯片检测的准确性受到影响,这使得生物芯片在法医鉴定方面的应用受到限制。而且 DNA 芯片也不适于检测简单重复序列、poly A 尾及卫星 DNA 的直接测序。现有的芯片多为一次性的,检测成本太高。有关的改进工作主要从以下几方面进行。

一、芯片的制作工艺

包括芯片载体材料的选取,新材料的开发,芯片制作工艺的改进,特别是芯片上大分子固定技术的改进。目前已经有人尝试用聚丙烯酰胺凝胶或顺磁珠(paramagnetic beads)来制作 DNA 芯片,用聚苯乙烯微珠(polystyrene beads)来制作蛋白质芯片。SIGMA 公司 2001 年推出的新型片基 Sigma Screen™ Coated Slides,他们使用氨基丙基三乙氧基硅烷(aminopropyltriethoxysilane)处理玻片,可使氨基基团以共价键结合到玻片表面。这样的载体表面可牢固地固定核酸分子,并且本底荧光水平很低。这些有益的尝试目的在于将来的芯片可以重复使用,进行芯片信号检测时信号清晰,干扰小。

二、探针设计及杂交程序设计

(一)探针设计与杂交条件控制

首先,芯片上的杂交反应要求高严谨性,即严格控制杂交体系的温度、洗涤时间、离子强度、靶序列与探针浓度以及探针 GC 含量和所带电荷等。从理论上说,当探针与靶序列之间的碱基不完全配对,哪怕只有单个碱基错配,这种结合就没有完全配对时牢固,在洗涤过程中就容易被洗脱;或者这种结合不牢固的分子结构在激光激发下产生的荧光强度非常弱,易于鉴别。但在实践中,这些理想状态往往不能达到,从而导致错误的结果。控制杂交的严谨性从理论上可以杜绝这些现象,但实际上有很大难度。人们一直在设法使杂交反应易于控制。SIGMA 公司的 Humphreys J 等于 2001 年初试验了 SIGMA 公司的 2 种杂交缓冲液:ArrayHyb™缓冲液和 ArrayHyb™ Low Temp 缓冲液进行的芯片杂交反应,用传统的缓冲液做对照。结果显示,2 种缓冲液都可提供更强的杂交信号。其中,ArrayHyb™ Low Temp 缓冲液(内含甲酰胺 formamide)可在杂交温度低于 60 ℃(40~55 ℃)时保持杂交的高严谨性。另一方面,芯片上高密度的探针链及靶序列的空间结构也影响着杂交反应。有资料显示,当探针与芯片之间加上适当长度的连接臂时,杂交反应效率可大大提高。还有人试验采用分支探针技术(branched probe)和分子信标技术(molecular beacons)来提高芯片杂交信号的特异性。前者主要指利用含有树枝样结构的探针与芯片

上的靶序列结合，再用酶标探针与分支探针结合。由于分支探针上带有大量分支，可结合大量的酶标探针，从而起到信号放大作用，提高检测的灵敏度。分子信标技术则类似于前面在芯片信号检测系统中介绍的 TaqMan 方法。另一种技术是利用肽核酸（peptide nucleic acids，PNA）探针固定于芯片上。PNA 是一类以酰胺键（假肽键）替代 DNA 中的核糖－磷酸二酯键骨架，并以基本相同的间距保留 DNA 中的碱基部位的“核酸分子”。它有 2 个基本特性：①它既非典型的多肽，也非 DNA，因而能抵御蛋白酶和核酸酶的降解作用，有很高的稳定性，而且不带电荷；②肽核酸具有杂交特异性非常高的特点。只要有单个碱基错配，杂交双链的稳定性就显著地下降，易于洗脱。目前已试探了用 DNA 合成仪合成 PNA，展现出制造 PNA 芯片的诱人前景。现在的主要问题是有机合成 PNA 价格昂贵，芯片的成本太高。所以有待方法进一步改进、简化和定型，便于规模生产。

（二）杂交程序设计

为了克服现有芯片灵敏度、特异度不够满意的情况，美国康奈尔大学 Gerry NP 等人于 1999 年设计了 PCR/连接酶探测反应/“邮码”杂交［PCR/LDR（ligase detection reaction）/zip－code hybridization］方法。其基本原理是：通过 PCR 将待测基因序列扩增出来，再用 LDR 法进行检测。所谓 LDR（也叫 ligase chain reaction，LCR），就是用 2 种引物寡核苷酸与 PCR 产物进行杂交，一种引物称为等位基因特异引物（allele－specific primer），另外一种称为普通 LDR 引物（common LDR primer）。这 2 种引物在退火时可以紧靠着结合到同一条靶片段上，普通引物在特异引物的 3′端，其 5′端的碱基与特异引物 3′端的碱基紧挨着。如果这 2 种引物均与靶序列完全配对，则可通过加入到反应体系中的连接酶（ligase）在普通引物 5′端核苷酸与特异引物 3′端核苷酸之间形成磷酸酯键，将 2 条引物连接成一条长核酸链。在随后的 LDR（或 LCR）反应中，这条链就可以作为模板参与到反应中。但若特异引物 3′端的碱基不能与靶序列配对，那么连接酶就无法将 2 条引物连接成一条核酸链，结果就不会有新的长链产生。在这个基础上，Gerry 等又做出了一些改进，他们对 2 条引物作了以下设计：特异引物的 3′端正好与靶序列上可能出现突变的位点对应，针对这一位点设计出 4 种特异引物，其 3′的碱基分别是 A、G、C、T。这 4 种引物的 5′端分别带上一段人工设计的各不相同的邮码序列（zip－code sequence）。普通引物则在其 3′端带上荧光标记。这样，在 LDR 反应中，只有一种特异引物可与待测序列完全互补结合，并被连接酶将其与普通引物连接成一条 3′端带有荧光标记的长核苷酸链。这时，将 LDR 产物进行变性处理，并用得到的单链核酸分子与特定的芯片杂交。这种芯片上的探针排列就像邮政编码的分区一样，在不同区域固定排列着能与前述的不同邮码序列互补结合的探针。最后，根据芯片上荧光信号的“邮码位置”即可推断出是哪一种特异引物与靶序列完全配对，从而推知靶序列中可能发生突变的位点的碱基组成。所谓的邮码序列是人工设计的一组 24－mer 寡核苷酸片段。Gerry 等从所有可能的四聚寡核苷酸序列（$4^4=256$）中挑选出 6 种四聚体（TCCG；ATCC；CAGC；GGTA；GACC；ACCT），并将这 6 种四聚体按不同的排列组合形成数种邮码序列，就像我们使用的邮政编码。选择四聚体时就考虑到避免最终的邮码序列中会形成自身配对（self－pairing）、发夹结构（hairpin），因此所有具有回文结构（如 TCGA）和重复序列（如 CACA）的四聚体不予采纳。由挑选出的四聚体组成的各个邮码序列具有相似的 Tm 值，同时序列彼此之间至少相差 6 个碱基，这就使在芯片上各个不同的探针之间不会产生交叉杂交（cross－hybridization）而干扰探针与待测靶序列的杂交反应，杂交反应条件也易于控制。最终，Gerry NP 等用这种芯片成功地检测并区分了从几种不同的肿瘤细胞中提取的含有不同突变位点的 K－ras 基因，获得了很好的特异性和灵敏性。进一步的实验表明，这种方法可检测到发生率低于 1% 的点突变。

三、杂交信号的检测及有关的仪器和软件

芯片的微型化使得其上的杂交反应信号十分微弱，肉眼是无法分析的，只能借助先进的仪器。另外，芯片的高集成度和分析信息的高通量使得杂交信号十分复杂，只能借助相应的软件来进行分析。各

大芯片制作公司在开发自己的芯片的同时也在开发配套的软件分析系统。如美国 GSI Lumonics 公司开发的 Scan Array 系列扫描系统和配套软件。

另外，其他类型的芯片在设计应用等方面也都存在着一定的缺陷。如利用生物芯片进行蛋白质功能的研究仍有许多困难需要克服，其中一个难点就是由于许多蛋白质间的相互作用是发生在折叠的、具有三维结构的多肽表面，不像核酸杂交反应只发生在线性序列间。在芯片分析过程中，能探测到折叠蛋白质三维结构的变化所需的灵敏度仍难达到，有以下几个原因：第一，芯片制备中所用的方法必须仍能保持蛋白质分子的折叠性质，而芯片制备中所有的化学试剂、热处理、干燥等工艺均将影响到芯片上蛋白质的性质；第二，折叠蛋白质间的相互作用对序列的依赖性更强，序列依赖性使得反应动力学和分析定量复杂化；第三，高质量的荧光标记蛋白质探针的制备仍待研究。这些原因加上其他的问题减慢了蛋白质芯片检测技术的进展速度。

第六节　展望

生物芯片发展至今不过才 10 年左右的时间，虽然还存在着这样那样的问题，但它的发展前景却是不可估量的。它可以平行分析大量的生物数据，因此，在基因表达谱分析、基因诊断、司法鉴定、新药物筛选、毒理学及全基因组序列分析等诸多领域乃至全部与生命科学相关的领域有着极高的应用价值。现在许多研究人员正致力于开发集样本处理、化学反应及信号分析于一体的“芯片实验室”，或者叫微型化分析器（micro miniature analyzer），即在一块芯片上整合了分析过程的多个步骤。如前文已介绍过的 Nanogen 公司 Wilding P 等研制的集细胞分离和 PCR 反应为一体的硅芯片，以及 Burns MA 等研制的纳升级 DNA 分析芯片，集 DNA 扩增、电泳分离和结果分析于一体。我们可以想像在未来的社会中，每个人都有这样一个“实验室”，可以很方便地检测自己的全部基因。并能够指导我们对疾病作出正确的诊断，制定合理的治疗方案，确定最有效的药物。对法医鉴定来说，DNA 芯片可以帮助我们建立起整个人群的“基因组数据库”。对于极微量的检材，还可以借助“芯片实验室”进行分析并与数据库对比，从而快速、准确地排除或确定嫌疑人。

DNA 芯片将由目前的微米级向亚微米乃至纳米的方向发展。相应的检测技术也将向更精细的程度发展。分子操作技术也将对 DNA 芯片的发展具有重要意义。作为中国当代科研工作者，生物芯片给予我们不但是惊喜，而且还有更深刻的启迪：科技在朝着多学科、多技术融合的方向迅速发展。

随着人类基因组计划的临近尾声，功能基因组计划的即将实施，生物芯片将成为我们的生命科学和医学研究有力的工具。正如美国商界权威杂志 Fortune 的评论：“微处理器使我们的经济结构发生了根本改变，给人类带来了巨大的财富，改变了我们的生活方式。然而，生物芯片给人类带来的影响会更大。它可能从根本上改变医学行为和我们的生活质量，从而改变世界的面貌。”

参　考　文　献

1　Fodor SPA, Read JL, Pirrung MC, *et al*. Light - directed, spatially addressable parallel chemical synthesis. Science, 1991,251(4 995):767 ~ 773

2　Pease AC, Solas D, Sullivan EJ, *et al*. Light - generated oligonucleotide arrays for rapid DNA sequence analysis. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(11):5 022 ~ 5 026

3　陈亚利，陆祖宏. 微芯片——生命科学领域的新工具. 生物化学与生物物理进展，1998,25(6):517 ~ 522

4　杨蓉，谢文章，张亮，等. 生物芯片研究进展. 生物工程进展，1999,19(4):33 ~ 37

5　Manz A. What can chip technology do for the chemistry community? 2000 international forum on biochip

technologies, technical digest. Beijing, 2000: 2 ~ 13
6 Kopp MU, de Mello AJ, Manz A. Chemical amplification: continuous - flow PCR on a chip. Science, 1998, 280(5 366): 1 046 ~ 1 048
7 Shoffner MA, Cheng J, Hvichia GE, *et al*. Chip PCR. I. Surface passivation of microfabricated silicon - glass chips for PCR. Nucleic Acids Res, 1996, 24(2): 375 ~ 379
8 Zammatteo N, Jeanmart L, Hamels S, *et al*. Comparison between different strategies of covalent attachment of DNA to glass surfaces to build DNA microarrays. Anal Biochem, 2000, 280(1): 143 ~ 150
9 Cheng J, Shoffner MA, Hvichia GE, *et al*. Chip PCR. II. Investigation of different 9 PCR amplification systems in microfabricated silicon - glass chips. Nucleic Acids Res, 1996, 24(2): 380 ~ 385
10 Cheng J, Waters LC, Fortina P, *et al*. Degenerate oligonucleotide primed - polymerase chain reaction and capillary electrophoretic analysis of human DNA on microchip - based devices. Anal Biochem, 1998, 257(2): 101 ~ 106
11 Belgrader P, Benett W, Hadley D, *et al*. PCR detection of bacteria in seven minutes. Science, 1999, 284(5 413): 449 ~ 450
12 Taylor TB, Winn Deen ES, Picozza E, *et al*. Optimization of the performance of the polymerase chain reaction in silicon - based microstructures. Nucleic Acids Res, 1997, 25(15): 3 164 ~ 3 168
13 Woolley AT, Mathies RA. Ultra - high - speed DNA fragment separations using microfabricated capillary array electrophoresis chips. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(24): 11 348 ~ 11 352
14 Shi Y, Simpson PC, Scherer JR, *et al*. Radial capillary array electrophoresis microplate and scanner for high - performance nucleic acid analysis. Anal Chem, 1999, 71(23): 5 354 ~ 5 361
15 Marshall A and Hodgson J. DNA chips: an array of possibilities. Nature Biotechnology, 1998, 16(1): 27 ~ 31
16 Blanchard AP, Kaiser RJ and Hood L. High - density oligonucleotide arrays. Biosensors & Bioelectronics, 1996, 11(6 ~ 8): 687 ~ 690
17 Okamoto T, Suzuki T, Yamamoto N. Microarray fabrication with covalent attachment of DNA using bubble jet technology [see comments]. Nat Biotechnol, 2000, 18(4): 438 ~ 441
18 Lueking A, Horn M, Eickhoff H, *et al*. Protein microarrays for gene expression and antibody screening. Anal Biochem, 1999, 270(1): 103 ~ 111
19 马立人, 蒋中华 主编. 生物芯片. 北京: 化学工业出版社, 2000. 95 ~ 98
20 Lee LG, Connell CR, Bloch W. Allelic discrimination by nick - translation PCR with fluorogenic probes. Nucleic Acids Res, 1993, 21(16): 3 761 ~ 3 766
21 Köster H, Tang K, Fu DJ, *et al*. A strategy for rapid and efficient DNA sequencing by mass spectrometry. Nat Biotech, 1996, 14(9): 1 123 ~ 1 128
22 Ferguson JA, Boles TC, Adams CP, *et al*. A fiber - optic DNA biosensor microarray for the analysis of gene expression. Nat Biotech, 1996, 14(12): 1 681 ~ 1 684
23 Walt DR. Bead - based fiber - optic arrays. Science, 2000, 287(5 452): 451 ~ 452
24 Chee M, Yang R, Hubbell E, *et al*. Accessing genetic information with high - density DNA arrays. Science, 1996, 274(5 287): 610 ~ 614
25 Gerry NP, Witowski NE, Day J, *et al*. Universal DNA microarray method for multiplex detection of low abundance point mutations. J Mol Biol, 1999, 292(2): 251 ~ 262
26 Schena M, Shalon D, Davis RW, *et al*. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray [see comments]. Science, 1995, 270(5 235): 467 ~ 470

27 Hacia JG, Brody LC, Chee MS, *et al*. Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two - colour fluorescence analysis. Nat Genet, 1996, 14(4):441 ~ 447

28 Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, *et al*. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(16):9 212 ~ 9 217

29 Cheng J, Shoffner MA, Mitchelson KR, *et al*. Analysis of ligase chain reaction products amplified in a silicon - glass chip using capillary electrophoresis. J Chromatogr A, 1996, 732(1): 151 ~ 158

30 O' Dell DM, Raghupathi R, Crino PB, *et al*. Amplication of mRNAs from single, fixed TUNEL - positive cells. Biotechniques, 1998, 25(4):566 ~ 570

31 Cheng J, Sheldon EL, Wu L, *et al*. Preparation and hybridization analysis of DNA/RNA from E. coli on microfabricated bioelectronic chips[see comments]. Nat Biotechnol, 1998, 16(6): 541 ~ 546

32 Cheng J, Sheldon EL, Wu L, *et al*. Isolation of cultured cervical carcinoma cells mixed with peripheral blood cells on a bioelectronic chip. Anal Chem, 1998, 70(11): 2 321 ~ 2 326

33 Radtkey R, Feng L, Muralhidar M. Rapid, high fidelity analysis of simple sequence repeats on an electronically active DNA micro - chip. Nucleic Acid Res, 2000, 28(7):E17

34 Armstrong B, Stewart M and Mazumder A. Suspension arrays for high throughput, multiplexed single nucleotide polymorphism genotyping. Cytometry, 2000, 40(2): 102 ~ 108

35 Gilles PN, Wu DJ, Foster CB, *et al*. Single nucleotide polymorphic discrimination by an electronic dot blot assay on semiconductor micro - chips. Nat Biotechnol, 1999, 17(4): 365 ~ 370

36 Schmalzing D, Belenky A, Novotny MA, *et al*. Microchip electrophoresis: a method for high - speed SNP detection. Nucleic Acids Res, 2000, 28(9): E43

37 Watson A. A new breed of high - tech detectives. Science, 2000, 289 (5 481):850 ~ 854

38 Arenkov P, Kukhtin A, Gemmell A, *et al*. Protein micro - chips: use for immunoassay and enzymatic reactions. Anal Biochem, 2000, 278(2):123 ~ 131

39 Edman CF, Mehta P, Press R, *et al*. Pathogen analysis and genetic predisposition testing using microelectronic arrays and isothermal amplification. J Investig Med, 2000, 48(2): 93 ~ 101

40 Amundson SA, Bittner M, Chen Y, *et al*. Fluorescent cDNA microarray hybridization reveals complexity and heterogeneity of cellular genotoxic stress responses. Oncogene, 1999, 18(24):3 666 ~ 3 672

41 Jelinsky SA, Samson LD. Global response of Saccharomyces cerevisiae to an alkylating agent. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(4):1 486 ~ 1 491

42 Wilson M, DeRisi J, Kristensen HH, *et al*. Exploring drug - induced alterations in gene expression in Mycobacterium tuberculosis by microarray hybridization. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(22): 12 833 ~ 12 838

43 DeRisi J, van den Hazel B, Marc P, *et al*. Genome microarray analysis of transcriptional activation in multidrug resistance yeast mutants. FEBS Lett, 2000, 470(2): 156 ~ 160

44 王升启. 基因芯片技术及应用研究进展. 生物工程进展, 1999, 19(4):45 ~ 51

45 高志贤. DNA 生物传感器及其研究进展. 生物技术通讯, 2000, 11(1):45 ~ 53

46 Hashimoto K, Ito K and Ishimori Y. Sequence - specific gene detection with a gold electrode modified with DNA probes and an electrochemically active dye. Anal Chem, 1994, 66(21):3 830 ~ 3 833

47 Sosnowski RG, Tu E, Butler WF, *et al*. Rapid determination of single base mismatch mutation in DNA hybrids by direct electric field control. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(4):1 119 ~ 1 123

48 Wilding P, Kricka LJ, Cheng J, *et al*. Integrated cell isolation and polymerase chain reaction analysis using silicon microfilter chambers. Anal Biochem, 1998, 257(2): 95 ~ 100

49 Schraml P, Kononen J, Bubendorf L, *et al*. Tissue microarrays for gene amplification surveys in many different tumor types. Clin Cancer Res, 1999,5(8):1 996~1 997

50 Yershov K, Barsky V, Belgovskiy A, *et al*. DNA analysis and diagnostics on oligonucleotide chips. Proc Natl Acad Sci USA, 1996,93(10):4 913~4 918

51 Fan ZH, Mangru S, Granzow R, *et al*. Dynamic DNA hybridization on a chip using paramagnetic beads. Anal Chem, 1999,71(21):4 851~4 859

52 Sato K, Tokeshi M, Odake T, *et al*. Integration of an immunosorbent assay system: analysis of secretory human immunoglobulin A on polystyrene beads in a micro-chip. Anal Chem, 2000, 72(6):1 144~1 147

53 Deyholos M, Wang H and Galbraith D. Microarrays for gene discovery and metabolic pathway analysis in plants. Life Science[a technical application newsletter SIGMA],2001, 2(1): 2~4

54 Humphreys J, Watson N and Backus J. Sigma's ArrayHyb™ and ArrayHyb™ LowTemp-optimized hybridization buffers for microarray applications. Life Science[a technical application newsletter SIGMA], 2001, 2(1): 12~13

55 Saag MS, Holodniy M, Kuritzkee DR, *et al*. HIV viral load markers in clinical practice. Nature Med, 1996,2(6):625~629

56 Tyagi S, Bratu D, Kramer FR. Multicolor molecular beacons for allele discrimination. Nature Biotchnol, 1998,16(1):49~53

57 伍新尧,罗超权,杨英浩.基因诊断原理与临床.广州:中山大学出版社,1995.38~39

58 Burns MA, Johnson BN, Brahmasandra SN, *et al*. An integrated nanoliter DNA analysis device. Science, 1998,282(5 388):484~487

59 Schena M, Heller RA, Theriault TP, *et al*. Microarrays: biotechnology's discovery platform for functional genomics. Trends Biotechnol,1998,16(7): 301~306

第二十一章 中国中毒案件的特色

张益鹄

中毒一直是法医学的主要研究内容之一。随着科学技术的发展和法医学的进步，现代法医学已走向分科发展的道路。法医毒理学（forensic toxicology）是主要研究以自杀、他杀为目的，以及意外、灾害中毒的一门法医学分支学科。在我国，从生物检材中分离、纯化、分析研究、鉴定毒物的一门学科，称为法医毒物分析（forensic toxicological analysis），也叫法医化学（forensic chemistry）。有人将重点对中毒原因、毒理作用、中毒病理变化以及中毒方式等进行研究的学科称为法医毒理病理学（forensic toxico - pathology）。顾名思义，它是法医毒理学与法医病理学之间的交叉学科。

由于我国是一个拥有960多万平方公里，13亿人口的世界最大的发展中国家，社会、政治、经济、文化等诸多方面不仅与发达国家，而且与大多数发展中国家都有相当大的差异，这些差异也必然反映在法医中毒案件的各个方面，使得我国的法医毒理病理学具有显著不同于国外的特色。了解和认识这些特色，有利于法医毒理病理学的理论研究和实际应用，或者说有利于法医中毒案件的鉴定。下面仅从几个主要方面介绍我国中毒案件的一些不同于其他国家，尤其是不同于发达国家的特点。

第一节 中国中毒案件发生原因和方式的特点

按照法医学的传统观点，将中毒死亡归类于非自然死亡或暴力死亡范畴，一般按中毒发生的原因和方式将其分为自杀中毒、他杀中毒和意外中毒3类。除此以外，渐受重视的环境污染、医源性中毒、吸毒及药物滥用等中毒，虽然它们从本质上讲绝大多数仍属于意外中毒一类，但又有不同于一般意义上的意外中毒。自杀中毒指以故意结束自己生命为目的的中毒，是各种自杀方式中最常见的一种。在我国某些地区，自杀中毒占各类自杀的80%以上。他杀中毒又叫做投毒，指以故意结束他人生命为目的的一种中毒，在我国是各种他杀方式中较常见的一种。意外中毒的类型较多，特点是中毒是在非故意情况下意外发生的，如食物被污染发生的食物中毒；有毒动植物或药物、毒物被误食发生的中毒；药物被滥用、误用或过量使用引起的药物中毒；职业性中毒；以及上述的环境污染、吸毒和药物被滥用所引起的中毒等。国外对中毒按其发生原因和方式不同而分类不同。我国由于人文、政治、经济、地理等各方面的影

响，在中毒原因和方式上有自己的特点。认识这些特点，在分析中毒案件的性质及确定毒物分析的线索中都有着相当重要的意义。

一、中毒发生的原因和方式的特点

中毒，尤其是中毒死亡是法医尸检的重要任务之一。在我国，中毒尸检以及毒物分析主要由公安机关的法医完成，是继机械性损伤、机械性窒息之后第3位常见的死因和尸检类型。综合北京、杭州、广州、西安、汕头、湖北省部分地区等公开报道的资料，在5 757例中毒尸检例中，自杀中毒最多见，计4 151例，占72.10%；其次是意外中毒，计1 050例，占18.24%；他杀投毒也不少见，计505例，占8.77%；此外，原因不明的中毒尸检51例，指通过尸检和调查仍不能确定其中毒原因或中毒方式的。

Litovitz TL等近十几年来每年都将全美国各地毒物控制中心（poison control centers）报告的中毒资料集中整理以年报的形式发表，能较全面地反映美国全国毒物中毒发生的情况。虽然它不是法医尸检资料，但应该说反映的情况更全面，也能作为欧美发达国家中毒发生情况的代表。2000年9月他们在美国急救中心杂志发表报告：1999年全美64个毒物控制中心报告的2 201 156例中毒中，中毒死亡873例。其中自杀中毒死亡472例，占54.07%；意外中毒死亡（包括一般意义上的意外、治疗上的错误、环境因素、食物中毒、职业中毒、吸毒和药物滥用等）323例，占37.00%；原因不明中毒死亡73例，占8.36%；另外还有5例被列入其他，是指不能归类于上述几种中毒原因和方式的各类中毒。George PG 1999年于洛杉矶举行的世界法医科学学会第十五届会议上，报告保加利亚首都索非亚1993～1998年间的8 431例法医尸检中，中毒死亡2 245例。其中以意外中毒最多见，计1 499例，占66.77%；其次为自杀中毒，745例，33.18%；他杀投毒仅有1例。比较我国资料，可以看出以下几点：①我国与美国虽然在中毒死亡例中均以自杀中毒死亡为最常见，但其在中毒死亡的构成比上，我国自杀中毒死亡占72.10%，而美国的占54.07%；②意外中毒死亡的构成比，我国的仅占18.24%，而美国高达37%；③他杀投毒占我国中毒尸检的8.77%，而美国资料中没有明确他杀中毒报道，即使将全部其他5例中毒都假设为他杀中毒死亡，其构成比仅为0.57%。其他发达国家的资料，其中毒情况也与美国类似，他杀中毒已很罕见。即使在保加利亚，据上述George PG的法医资料，1993～1998年6年间只鉴定1例为他杀。

Singh D等1999年报告北印度Chandigarh地区从1972～1997年急性中毒的变化趋势，375例急性中毒死亡中，自杀中毒最多见，计259例，占69.07%；其次是意外中毒死亡，92例，占24.55%；不明原因中毒死亡22例，占5.87%；他杀只有2例。印度与我国同为人口众多的发展中国家，其资料来源与上面所引的资料相同，均是法医尸检资料。其中两者自杀中毒死亡和意外中毒死亡所占的比例相近似，但他杀投毒死在印度也属罕见，在375例中毒死亡中仅有2例即使包括全部22例不明原因的中毒死，他杀中毒也少见。因此，我国他杀投毒案件的发生，远较欧美发达国家，甚至较地理、人口、经济相似的印度都高得多。其如此显著差异的原因，一般认为目前发达国家的尸检率高，尸检都做毒物分析，且毒物分析的仪器和技术先进，使得极少量的毒物都能被检测出来，而使投毒杀人的阴谋容易揭露，故目前使用这种投毒手段杀人案件的已极少见。但印度北方地区为何他杀投毒也十分少见，原因不清。我国他杀投毒案件的绝对数和相对数都高的现实，则要求我们在对中毒案件死亡方式的鉴定中，应警惕他杀投毒犯罪的可能。

二、他杀投毒方式的特点

我国他杀投毒案件与国外发达国家相比不仅数量多，而且其投毒方式也极其多样，有很多在国外是少见或罕见的，其表现特点主要有以下几种。

1. 注射方式投毒　一些犯罪分子，尤其是有一定医药卫生知识的医药工作人员，为了隐蔽其投毒犯

罪的行为，常借给予治疗为名，采用注射方式投毒。如将毒药混入静脉输液内、或直接将毒药肌内注射、体腔（胸腔、腹腔、心包腔）注射、或穴位注射。所使用的毒物除常见的农药以外，还有氯化钾、氰化物、氯丙嗪、升汞、肾上腺素、胰岛素，甚至有用水银、蛇毒注射杀人的案例报告（照片图21－1、照片图21－2、照片图21－3）。如果尸检时忽略了不很明显的注射痕迹，或者误以为其是治疗或抢救时注射药物形成的，又不注意提取胃内容物以外的检材送作毒物分析，只想到口服中毒的可能，就很有可能让犯罪分子的阴谋得逞。

2. 体腔塞入毒物　与被害人关系密切的罪犯，有时将毒药塞入阴道、直肠，或将液体毒药滴入外耳道、眼内等方式投毒，也是一种较为隐蔽的他杀投毒方式。罪犯多乘被害人睡觉等不觉察的情况下所为。据报告，所使用的毒物有有机磷农药、砷化物、铬酸酐（一种强腐蚀性酸酐）、升汞胶囊等（照片图21－4）。因此，对怀疑中毒者各体腔的检查成为中毒尸检不可忽略的步骤之一。

3. 小量多次投毒　黄光照、李立卓、段亚清等先后报道过将磷化锌、氯化钡、氟乙酰胺等小量多次投毒的案例。这种方式投毒较之上述投毒方式更为隐蔽，被害人常被误为有病就诊治疗。故被害者死亡后难以被人怀疑为中毒死亡。如上述多次小量投以磷化锌死亡者就曾被临床医生误诊为传染性肝炎、急性胆囊炎、胆道感染；氯化钡中毒死亡者也曾被误诊为周期性麻痹；氟乙酰胺中毒死亡者被误诊为非特异性脑炎。这只是被揭露的少数案例。未被揭露的利用这种方式投毒的犯罪实际上可能更多。一旦尸体火化，事后即使受到怀疑，往往也难以被证实或取得证据。

4. 邮寄含有毒物的食物或药物投毒　这种投毒方式虽然不多见，但已有发生。如将剧毒杀鼠药毒鼠强混入点心内邮寄给被害人，将氰化物混入治疗用的药物内寄给患者等。如果寄送人与收件人是熟人，则不易为人所警觉。

5. 多种毒物混合投毒　一般见于利用有相加或协同毒性作用的几种毒物混合投毒。如几种镇静催眠药、不同的有机磷农药、作用类似的杀鼠剂（如毒鼠强与氟乙酰胺）等一起投毒。这种投毒案例在分析毒物定量结果时应注意，如果只检测某一种毒物，可能达不到其通常的中毒致死量或中毒致死血浓度，因而容易引起司法审判人员或律师的质疑。只有将几种同时投入的毒物都做了定量检测，才能合理解释毒物定量分析的结果。

三、自杀中毒方式的特点

我国自杀中毒的方式一般与国外无明显差异，多采用口服毒物的方式。其特点是多选用自杀者自己所有或能得到的毒物原形，不混入或添加在食物、饮料、药物等内加以伪装。如口服有机磷农药的原液、毒鼠剂的原粉、氰化物结晶体、镇静催眠药的药丸等。而且所服毒物剂量常较大，通常大大超过该毒物的一般中毒致死量。有的自杀者使用有剧烈臭味、苦味、鲜明颜色或强烈腐蚀性的毒物。因此，尸体剖验时如检见毒物的上述性状特点，除了少数年幼儿误服意外中毒或被骗服外，一般强烈提示自杀中毒。

除此之外，我国自杀中毒案例中，不乏自杀者先服毒后谎报被他人损伤而死，或者先服毒后与人扭打，或者到其有意报复的人家中服毒死亡等案例，应引以警惕。这类情况多见于农村地区文化水平较低的人，尤其是年老人。如某农民，男，70岁，一日在纠纷中被人打伤卧床不起，事过数天仍未能得到妥善解决和合理赔偿，便在家自服农药敌敌畏，并告知其子待他死后向政府报告是被对方打死。法医尸检未能检出致命性损伤，却在胃内检见大量敌敌畏农药原液。另有一农村青年妇女，因夫妻关系长期不和，一日下午在家大喊被其夫灌了农药。邻居闻讯赶来，该女还抱着人家让其闻口中农药气味，不久昏迷死亡。在其家找出还剩半瓶有机磷农药的药瓶。公安机关认为死者死前亲自向人指认其夫灌农药杀人，可谓"人证"、"物证"俱全。虽然死者丈夫坚决否认，但仍被拘捕。后法医检查其尸体，见全身外表无损伤，衣服上无农药喷溅流注痕迹，剖验见胃内有约300 ml 1605有机磷农药原液。根据尸检所见，排除了

被人强行灌入1605农药的可能，死者丈夫终于没有被冤枉。

实践中还有人服毒后故意与别人发生纠纷，在纠纷中或纠纷后不久因毒性发作而死亡。如不注意，有可能导致错误鉴定。如一老农，自服有机磷农药甲胺磷后故意与邻家两母女争吵，以难听的语言刺激对方，致使对方用拳打了他头部一下，当即倒地、昏迷不醒，治疗无效死亡。因尸检见肺内明显出血，曾被错误诊断为肺广泛挫伤死亡（照片图21－5）。

四、意外中毒方式的特点

虽然意外中毒的方式很多，但较之欧美发达国家我国意外中毒方式有以下特点。

1. 突发性群体性中毒多见　如以甲醇严重超标的工业酒精兑水后冒充饮用酒，含大量有机锡的猪油出售，亚硝酸钠误当食盐使用，有机磷污染食物等引起的中毒国内已有报道，常导致几十、几百人集体中毒的悲剧，其中不少人中毒死亡。据中国预防医学科学院中毒控制中心1999年第9期工作简报：我国数百人中毒的重大事件，继1997年山西省朔州甲醇中毒，1998年江西省毒猪油中毒事件后，1999年广东肇庆市因食掺杂液体石蜡的食用油又引起681人中毒。由于影响大，在没查清楚中毒原因前，常常要求法医参加调查和检验。在对怀疑这类中毒的法医鉴定时，对所有中毒人员发生的中毒症状进行流行病学方式的调查，症状、体征的归类分析，以及筛查式的毒物化验，能为这些事件性质的澄清提供重要的线索或依据。类似事件在发展中国家也较常见。在欧美发达国家较少见，但仍可能遇到。

2. 环境污染中毒日渐严重　工农业现代化的不断发展，使环境污染成为当今世界各国普遍关心的问题，我国也不例外。由于一些地方对有毒的废水、废气、废渣没有严格管理和适当处理，往往导致一个地区群体性的中毒。如已报道的新疆等地因私自非法淘金、炼金，致使冶炼金矿所用的氰化物流入土壤和水域中，污染饮水和食物，引起当地不少人中毒。湖南郴州农村土法烧窑炼制砒霜，引起当地空气、土壤和水源的污染，导致不少人急性或慢性砷中毒。有毒挥发液体如液氨、一甲胺、氨气、氯代甲酸、甲酸等，因其盛装容器泄漏或输送管道突然破裂，致使多人吸入有毒气体而中毒的事件累有报道。随着人们法律意识的提高和环境保护法律的完善，已有由此引起的法律诉讼，被害人或其家属要求法医鉴定身体伤害赔偿的案例，今后会不断增多。

3. 医源性中毒尚未引起重视　据前述Litovitz TL发表的全美毒物控制中心协会（American Association of Poison Control Centers，AAPCC）1999年的年报中所述，全美国总共2 201 156例中毒，其中意外中毒66.3%，指的是一般意义上的意外；医源性意外中毒占第二位，超过8.5%。而在873例中毒死亡例的意外中毒死亡中，医源性药物中毒占第一位，占60%以上。相比之下，我国报道的中毒尸检资料中，医源性药物中毒所占的比例很少。这能否反映我国医源性药物中毒的实际情况值得探讨。随着医药卫生事业的发展以及人们对自身健康要求和期望的提高，除了饮食以外，医药是人们最多摄取的物质。由于几乎没有绝对无毒的药物，一旦药物使用过量，或误用，或配伍错误，都可导致中毒，甚至死亡。在医疗纠纷或医疗事故中，不少都是由于医源性药物中毒引起的。虽然我国已有少数这样的文章发表，如王佐飞等1993年报道11例，王建军等1998年报道9例，涉及的药物有氨茶碱、6－巯基嘌呤、阿托品、氯化钾、安乃近、庆大霉素、链霉素、林可霉素、红霉素、慢心律（商品名）、百白破疫苗、咳必清、抗结核药物（照片图21－6）等，以及某些中药。如果我们提高了对医源性药物中毒的警惕，必然会发现更多的医源性药物中毒案例。

4. 吸毒日渐增多　吸毒一直是欧美发达国家、现已遍及全世界的一个严重社会问题。据2000年2月联合国毒品监督机构公布的年度报告，全世界已有逾2亿人在吸毒。美国2.6亿人口中，有1 280万人曾吸过毒。还是在Litovitz TL发表的全美国1999年中毒年报中，吸毒在有意识的（intentional）中毒原因中，是除自杀中毒以外第二位多见的原因。而且在此前的十几年中吸毒都是美国重要的中毒原因和类型。

吸毒在我国只是最近十几年的事情，但其形势已十分严重。1988 年全国登记在册的吸毒人数仅 7 万人，1991 年上升到 14.8 万，1992 年 25 万，1994 年 38 万，1998 年 59.6 万，1999 年 68.1 万，2000 年已达 86 万，其中 80% 是 35 岁以下的青少年，涉及全国 2 000 多个县（市），占县市总数的 70% 以上。这只是登记在册的人数，有人形容这是实际吸毒人数整个冰山露出水面的一角。吸毒者中 25% 在开始吸毒后 10～20 年死亡，有一些甚至在第一次吸毒就死去。吸毒者的死亡率显著高于一般人群，可能与以下因素有关。

（1）吸毒过量中毒死亡　尤其是静脉注射吸毒。因黑市上出售的毒品（如海洛因）纯度极不稳定，吸毒者每次得到的毒品纯度不同，他本人又无法判断，如偶尔买到高纯度的毒品，注射后极易引起过量中毒；加之吸毒者为了最大限度地追求快乐，也冒险使用大剂量毒品；或者把几种毒品混合使用，增加了毒性；戒毒后的复吸者可因戒毒后其对毒品的耐受性显著降低，但复吸时仍用戒毒前的剂量，由于相对过量而中毒，甚至死亡。

（2）吸毒者自杀　其自杀率较一般人群自杀率高 10～15 倍。吸毒者为了筹集毒资，常冒险从事各种犯法犯罪活动，如抢劫，盗窃，杀人，贩毒及黑社会活动，其被人伤害死亡的几率也远高于一般人。

（3）死于吸毒的并发症　如心内膜炎、病毒性肝炎（照片图 21－7）、肺炎、肾炎、结核、AIDS 等。他们得了上述疾病后常不积极治疗而延误病情和治疗时机，故后果严重。

（4）意外死亡　吸毒者可因注意力、判断力及认知力的下降而容易发生车祸、工伤事故等意外死亡，或在毒品作用下产生幻觉而自杀或杀人。

（5）因药物不良反应而死亡　作者曾尸检一例因戒毒药致急性胃扩张死亡。剖验时见胃扩张达盆腔（照片图 21－8），死于急性循环障碍。

吸毒死亡在许多国家规定应做法医尸体剖验。现在也正成为我国法医毒理学和法医病理学研究的重要任务之一。吸毒及与其相关的死亡迅速增多，已成为我国近十几年中毒发生的一个新特点。

第二节　中国法医学常见毒物种类特点

张益鹄等及其他一些法医对中毒尸检资料的统计分析，都反映出我国法医中毒案件不仅在中毒发生的原因和方式上与国外，尤其是与欧美发达国家相比较，有鲜明的特点，而且在毒物的种类上也有许多突出的特征。

一、毒物种类的变化

这与经济的发展，国家有关政策的变化密切相关。例如，在建国前和 20 世纪 50 年代，我国化学工业和农药制造业均还不发达，法医实践中所遇到的毒物仍是一些传统的毒物，如砷、氰化物、巴比妥、CO 等；20 世纪 60 年代由于农业生产发展的需要，大量生产和使用有机氯（DDT、六六六），有机汞（赛力散、西力生）农药，其引起的各类中毒也迅速增多；60 年代以后，有机磷类农药生产和使用迅速增长，加之国家禁止继续生产和使用有机氯和有机汞农药，有机磷农药很快取代其他毒物，成为最多见的毒物；80 年代以后，一批新的农药如氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、杀虫脒、杀虫双等，又逐渐取代有机磷农药。即便是有机磷农药，随着年代不同也在变化，开始以 1605、1059、乐果、敌百虫等多见；后来敌敌畏中毒逐渐增多，尤其是在城市，因为广泛用其灭蚊杀虫而容易得到；往后，甲胺磷又渐为多见，且有几种农药混合配制的商品引起中毒的报道。

有毒化学品和药品种类的变化也有同样的特点。例如，镇静催眠药，20 世纪 50～60 年代以巴比妥类最多见；70 年代以后，非巴比妥类的吩噻嗪类渐增多；80 年代以来，作用迅速的安定类镇静安定药安定、舒乐安定、三唑仑等因大量生产和容易获得，且作用迅速，又成为当今最常见引起中毒的镇静催

眠药。

二、农药中毒

前述湖北、北京、广州、杭州等省市法医中毒尸检资料，涉及的年份从20世纪50年代到90年代40～50年的时间，代表了中国从农村到城市的许多地区。虽然各个报道中常见毒物的构成或者顺序有些差别，但共同的特点是农药均在各地中毒尸检案例中占第一位。张益鹄等报道湖北部分地区1 966例中毒尸检中，各种农药（不包括杀鼠剂，下同）中毒1 381例，占70.24%，其中有机磷农药1 172例，又占84.81%。黄世军等报道的杭州地区550例中毒中，农药404例，占73.5%，其中有机磷农药391例，又占96.78%。卞晶晶等报道北京地区1 503例中毒尸检中，农药779例，占51.83%，可能因其主要是大城市的资料，故农药中毒的比例较前几份资料为低。但779例中778例是有机磷农药，其中尤其以敌敌畏最多见，有741例，也反映了大城市毒物种类的特点。

农药不仅在各类毒物总的构成中最常见，而且在各种中毒的原因和方式中，不论是自杀、他杀和意外中毒，农药均占第一位。

我国农药中毒最为多见的这种特点显著不同于欧美等发达国家，因为他们那里工业化程度高，大多数人口生活在城市，接触农药机会少，因而农药中毒极罕见。Litovitz TL等的1999年全美国中毒年报资料中，中毒死亡例由杀虫剂（不包括杀鼠剂）引起的仅有10例，而最常见的是止痛药（analgesics），有340例，随后依次是抗抑郁药（antidepressants）153例，心血管药（cardiovascular drugs）127例，毒品（stimulants and street drugs）及镇静催眠抗精神病药（sedative/hypnotics/antipsychotics）110例等。George PG报告的保加利亚首都索非亚中毒尸检例中，最常见的是酒精中毒，其次是毒品和药物中毒，没有一例是农药中毒。与我国同是发展中大国的印度，据Singh D等报告Chandigarh区1972～1997年25年间的375例法医中毒尸检例中，最多见的是磷化铝（243例，占64.8%），有机磷农药和氨基甲酸酯类农药占第2位（48例，占12.8%），其他均较少见。与我国比较，印度的毒物种类虽有其特点，但与我国基本相似，农药仍较多见。

三、杀鼠剂中毒

在张益鹄等报道的湖北省部分地区1 966例中毒尸检资料中，杀鼠剂（rodenticides）是仅次于农药的第2位最常见的中毒，有131例，占6.66%。即使在北京、杭州等大城市的中毒尸检资料分析中，杀鼠剂仍占第3～4位。Litovitz TL等报道的1999年美国中毒资料中，因杀鼠剂中毒死亡的仅3例，均是用抗凝血杀鼠剂自杀。发展中国家与我国类似，但印度磷化铝中毒尤为多见，可能与那里人们使用磷化铝杀鼠的习惯有关。自1982～1997年，磷化铝已超过有机磷农药而成为印度北方地区最常见的毒物。我国杀鼠剂中，早期以磷化锌较多见，后来抗凝血类杀鼠剂（如敌鼠，杀鼠酮，杀鼠灵）和惊厥类杀鼠剂（氟乙酰胺，毒鼠强）更为常见。虽然由于惊厥类杀鼠剂毒性剧烈，又易致二次中毒，被国家禁止生产和使用。但因其生产工艺较简单，成本低，利润高，杀鼠效果强而快，仍被不少地方非法生产，并广泛流散民间用于杀鼠。尤其是毒鼠强已成为近几年法医工作中最常见的毒物，已有不少案例报告。据张银华等报道，从湖北省公安厅1995～1999年受理的中毒化验案件看，氟乙酰胺逐渐减少，毒鼠强逐渐增多，至1999年毒鼠强中毒136例，占该年受理203例中毒化验案的67%。因其色白无味，毒性强，作用快，常被犯罪分子用来投毒杀人，且易于得逞。中毒后迅速发生癫痫样反复的强直性抽搐，以及伴随恶心、呕吐、呼吸困难和神志昏迷，是其特征性的中毒表现。一般毒物分析方法不能检出，但气相色谱分析检出的灵敏度高，1 g左右的检材亦可得出阳性结果，凭此可与其他痉挛性毒物中毒和癫痫等有强直抽搐发作的疾病相鉴别。

杀鼠剂中毒以自杀最常见，他杀投毒的也不少见。张益鹄等报道的湖北省部分地区131例杀鼠剂中毒尸检中，他杀中毒36例，占27.48%，在总共208例各类中毒尸检例中，也是仅次于农药的第2位常见中毒。这是又一个特点。

四、有毒动植物中毒

我国不仅有毒动植物资源十分丰富，而且由于几千年来广大群众，特别是在农村地区，用其治病防病的习惯沿袭至今。有误用过量、用法不当，或当作食用动植物引起意外中毒，也有以其服毒自杀和投毒杀人的案件发生。这是我国中毒案的又一个特点。据文献不完全统计，我国已有中毒报告的有毒植物达150种以上，有毒动物10多种。最常见的有毒植物中毒多由毒蕈、乌头、雷公藤、钩吻等引起。最常见的有毒动物中毒为蛇毒、斑蝥、鱼胆等中毒。Litovitz TL等报告的美国1999年中毒资料中，虽然有毒植物中毒排第4位，共113 864人，占5.2%。但在全部873例中毒死亡中，仅有8例是有毒植物所致，其中5例是误食毒蕈中毒，还有2例是滥用曼陀罗种子中毒死亡。有毒动物中毒死亡7例，其中蜂叮3例，棕蜘蛛(loxosceles reclusa)叮咬2例，蛇毒中毒2例，其中1例饮响尾蛇酒中毒。

有毒动植物中毒涉及的毒物种类与中毒发生的地区及季节有明显的关系。常限于有其生产的地区和季节。例如毒蕈中毒以夏秋季蕈类生长季节最为多见；乌头中毒虽然几乎可见于全国各省区，但以四川、贵州、云南、湖南、湖北等省区农村多见；毒蛇咬伤引起的蛇毒中毒一般也见于每年的4～10月，尤其是7～9月蛇类活动期多见(照片图21－9、照片图21－10)。

由于绝大多数有毒动植物的有毒成分十分复杂，并且有不少的有毒成分至今尚未清楚，故至今对其多缺乏特异性的检测方法。其中毒的鉴定除了少数几种(如乌头、雷公藤、钩吻、马钱子、斑蝥等有化验方法检测)以外，常靠中毒流行病学调查、中毒症状分析、动物实验观察及系统尸体剖验排除其他可能死因等综合分析后作出判断。

将有毒动植物用来自杀和他杀的案件也不少见。如将有毒植物(乌头、雷公藤、钩吻、豆薯子、曼陀罗、马桑)混入食物或药物内投毒；将有毒动物斑蝥投入食物中；利用毒蛇(银环蛇)咬伤致人中毒死亡，近年还有将银环蛇毒液收集后以注射方法杀人的案例报告，这些都是国外极少见的。

五、中国毒品种类的特点

前面讲到，近十几年吸毒已成为我国常见的中毒种类之一，因其引起死亡需法医鉴定的案例已不少见。虽然吸毒是一个世界范围的社会问题。但国家不同、年代不同，毒品流行的种类也有差别。

毒品一般分为阿片类(鸦片、海洛因、可待因等)、兴奋剂(可卡因、苯丙胺类)、致幻剂(大麻、LSD)等。欧美等国家目前以可卡因、大麻类为最常见，据报告约有1/3的美国人曾吸食过大麻。日本及东南亚，包括我国的台湾、香港地区，苯丙胺类(amphetamine)特别是甲基苯丙胺(methamphetamine，俗称“冰”毒)，是最流行的毒品。

我国最常见的毒品，目前仍然是海洛因，尤其是在云南、贵州、广东、广西等省区，90%以上的吸毒者使用的是从缅甸、泰国边境所谓“金三角”地区贩运过来的。但是，苯丙胺类兴奋剂被国际社会有关毒品专家预测为21世纪毒品流行的新趋势。20世纪90年代以前，当苯丙胺类毒品已在日本、东南亚等地流行时，我国尚不存在制造和吸食这类毒品的问题。但近几年，苯丙胺类毒品在我国迅速发展蔓延，大有超过其他传统毒品的势头。以甲基苯丙胺为主要原料生产的摇头丸等毒品已成为不少大中城市娱乐场所青少年中广泛滥用的毒品。据公安部禁毒局2001年2月透露，全国有31个省、区、市发现吸食冰毒(甲基苯丙胺)和摇头丸问题。1991～1998年全国共破获制贩“冰”毒犯罪案件仅170起，缴获“冰”毒7.3 t。而1999年一年就破获制贩“冰”毒案件190起，缴获“冰”毒16 t多，比前8年的总和还

多。2000 年缴获“冰”毒量又上升到 20.9 t，摇头丸近 24 万粒，摇头丸粉 200 多千克。

参 考 文 献

1 张益鹄，黄光照，郭智贤，等. 湖北部分地区 8 610 例法医尸检资料的回顾性研究. 法医学杂志，1998，4(4)：1
2 张益鹄，黄光照，郭智贤，等. 1 966 例中毒尸检分析. 中国法医学杂志，1989，4(1)：40
3 张益鹄. 我国法医毒物种类的特点. 见：黄光照主编. 法医毒理学. 第 2 版. 北京：人民卫生出版社，1998，8～9
4 张益鹄，黄光照. 9 种有毒植物的尸检报告. 中国法医学杂志，1987，2(1)：19
5 张益鹄，黄光照. 有毒动植物 4 例尸检报告. 中国法医学杂志，1987，2(2)：114
6 黄光照，秦启生，张益鹄，等. 231 例中毒尸检的分析. 武汉医学院学报，1984，13(1)：39
7 黄世军，褚建新，陈惜秋，等. 550 例中毒死亡案分析. 中国法医学杂志，1992，7(1)：40
8 邓大中，蔡明屈，袁方，等. 广州市 7 478 例法医尸检资料的回顾性研究. 法医学杂志，1995，11(1)：18
9 卞晶晶，刘力，任嘉诚. 北京地区 1 503 例中毒尸检分析. 中国法医学杂志，1990，5(2)：103
10 邓军虎. 6 353 例尸检资料分析. 第五次全国法医学术交流会论文集. 北京：中国法医学会，1996，30～31
11 黄朝旭. 3 130 例法医尸检资料分析. 法医学杂志，1998，14(1)：33
12 但英. 432 例自杀案例分析. 法医学杂志，2000，16(2)：95
13 向平，沈敏，卜俊，等. 毒鼠强中毒的研究. 法医学杂志，2000，16(2)：88
14 潘万飞. 214 例中毒尸检的分析. 中国法医学杂志，1995，10(2)：116
15 卜俊，邓丽平，颜零，等. 某地区服毒自杀的毒物种类分析. 法医学杂志，1987，3(1)：11
16 张润生. 383 例农药检案分析. 法医学杂志. ，1991，7(2)：1
17 段亚清，王晓峰，郭鼎，等. 小量多次氟乙酰胺中毒的法医学鉴定(附 4 例报告). 中国法医学杂志，1995，10(2)：111
18 李兴发. 4 例马钱子中毒的尸检报告. 中国法医学杂志，1990，5(1)：43
19 郑德滋，罗世广. 肌肉注射烟碱中毒致死一例. 中国法医学杂志，1990，5(1)：42
20 荀显文. 斑蝥中毒死亡 2 例. 中国法医学杂志，1990，5(3)：156
21 孙洪涛，黄光照，张益鹄，等. 鱼胆中毒的实验病理研究. 中国法医学杂志，1991，6(1)：3
22 王学文. 441 例中毒分析. 法医学杂志，1997，13(4)：213
23 张益鹄，王和枚，刘世新，等. 国内外吸毒死亡法医尸检 40 例比较. 法医学杂志，1997，13(2)：79
24 钟继荣. 于都县 209 例自杀死亡案例统计分析. 法医学杂志，1997，13(1)：20
25 周良鹏，王波. 314 例自杀分析. 法医学杂志，1996，12(2)：84
26 周亦武，刘良，田金敖，等. 戒毒过程中死亡 5 例尸检分析. 法医学杂志，1998，14(2)：94
27 周亦武，刘良，唐龙，等. 毒鼠强中毒尸检 5 例病理分析. 法医学杂志，1998，14(4)：214
28 吴群良，孙海平，王贵云. 11 例毒鼠强中毒尸检分析. 法医学杂志，1999，15(4)：219
29 王学文. 41 例毒鼠强中毒分析. 法医学杂志，2000，16(1)：31
30 易旭夫，邓振华，廖志钢，等. 14 例 CO 中毒死亡尸检分析. 法医学杂志，2000，16(3)：162
31 刘良，张益鹄，邓伟年，等. 急性斑蝥中毒的实验病理学研究. 中国法医学杂志，1993，8(3)：133
32 王佐飞，黄光照. 11 例医源性药物中毒分析. 中国法医学杂志，1993，8(3)：176
33 王玉瑾，李贵明，贠克明，等. 含甲醇假酒中毒致死的法医毒物分析. 中国法医学杂志，1998，13(4)：241

34 李万里,范雷,尹建华.500 例海洛因死亡分析.中国法医学杂志,1996,11(4):242
35 朱少华,张益鹄.毒蕈中毒 4 例尸检报告.法医学杂志,1993,9(4):179
36 刘良,黄光照.十余年来我国法医毒理学进展.见:侯--平,刘世沧主编.法医学进展与实践.第 2 卷.成都:成都科技大学出版社,1999
37 方晓云,冯怡.海洛因依赖者 100 例分析.法医学杂志,1998,14(3):149
38 闫春霞,张宏星,唐承汉,等.毒品相关死亡及目前法医鉴定中存在的问题.中国法医学杂志,1999,14(3):186
39 姜佐宁主编.毒品的危害与防治.北京:中国社会科学出版社,1998,16~57
40 黄光照主编.法医毒理学.第 2 版.北京:人民卫生出版社,1998
41 Litovitz TL, Klein - Schwartz W, White S, *et al*. 1999 Annual report of the American association of poison control centers toxic exposure surveillance system. Amer J of Emerg Med, 2000, 18(5):517~597
42 George PG. Violent death cases in Sofia, Bulgaria for the peroid 1993~1998. In proceeding of the international association of forensic sciences 15th triennial meeting, Losangles. 2000. 178~179
43 Singh D, Tyagi S. Changing trends in acute poisoning in Chandigarh Zone, a 25 year autopsy experience from a tertiary care hospital in Northern India. Am J Forensic Med Pathol, 1999, 20(2):203~210
44 Salgado MS. Forensic medicine and medicolegal investigation in Srilanka. Am J Forensic Med Pathol, 1986, 7(2):137~145
45 DE Alwis LBL and Salgado MSL. Agrochemical poisoning in SriLanka. Forensic Sci Int, 1988, 36:81
46 Froede SM, Byers JM, Wolfgang GHI, *et al*. An analysis of toxic death, 1982 to 1985, Pima county, Arizona. J Forensic Sci, 1987, 32(6):1 676
47 Caplau YH, Ottinger WE, Park J, *et al*. Drug and chemical related deaths: Incidence in the state of Maryland - 1975 to 1980. J Forensic Sci, 1985, 30(4):1 012
48 Carriott JC, Dimaio VJM, Petty CS. Death by poisoning: A ten - year survey of Dallas county. J Forensic Sci, 1982, 27(4):868
49 Senanayake N and Karalliedde L. Pattern of acute poisoning in a medical unit in central Sri Lanka. Forensic Sci Int, 1988, 36:101

第二十二章 精神疾病与暴力行为

蔡贵庆

暴力(violence)是攻击的一种特殊形式。在自然界,攻击是一种很普遍的现象,是生存的必要反应,如获取食物、保护个体及群体,因此攻击具有两方面的性质,一方面是侵犯性,另一方面是防御性。在人类社会中,攻击已经渗透在政治、经济、文化等生活的每一处,对攻击一词很难给以精确定义。在牛津字典中攻击(aggression)被定义为一种未经触犯而发生的袭击(an unprovoked attack);在对人类攻击行为的研究中,通常采用的是 Baron(1977 年)提出的定义和标准:攻击行为是任何形式的有目的伤害另一生物体、而为该生物体所不愿接受的行为,攻击的极端形式称为暴力(violence)。暴力一般被视为一种体力力量(physical force)的攻击行为,涉及巨大力量的、有意图的或可能致成损害或破坏的一种行为(Miller 1971 年)。本章所述的暴力行为,是指给他人身体造成严重伤害,甚至死亡的极端攻击行为。

第一节 流行病学调查

人们通常会把精神疾病患者视为有暴力行为倾向的人,其客观的原因有二:一是由于精神病患者受到精神症状的支配,表现出一些异乎寻常的言行,使得周围的人不能容忍而强加干涉或采取一些强制措施,增加了与患者之间的冲突而导致发生攻击行为;二是由于精神病患者所发生的暴力行为,往往因为手段非常残忍,后果极其严重,社会影响很大,给人们的印象深刻。所以在过去,精神病患者常常遭到禁闭或其他非人待遇,而无论其有无发生暴力行为;即使是今天,在一些人的观念中仍视精神病患者如洪水猛兽,避而远之。

那么,精神病患者暴力行为的发生率是否高于一般精神正常群体?或者,精神病患者是否比一般群体更易于发生暴力行为?精神疾病暴力行为的流行病学调查正是致力于解决这一问题。

一、精神病患者暴力行为的发生率

在对精神病患者与暴力行为关系的调查研究中,大多数研究的对象主要是:住院精神病患者、监狱

犯罪人、司法精神病鉴定中的被鉴定人。此类研究很少在一般人群中进行，其研究结论因而都受到研究样本局限性的影响。

住院精神病患者在院内发生的暴力行为，随着医疗条件和环境的改善，已得到较好的控制，如贾宜诚对上海市精神卫生中心 1954～1987 年住院患者的调查，发现这 33 年间患者在院内发生的危害行为不过 8 起，其中严重伤害 5 例，杀人未遂 1 例，远远低于正常社会人群中这类案件的发生率。在住院精神病患者中的另一种调查，是针对患者在住院前的暴力行为，例如 Modestin J 和 Ammann R(1995 年)对瑞典的 1 265 例住院精神病患者进行住院前犯罪率的调查，并在精神正常人群中选择了与之匹配的对照组，发现在男性精神病患者中暴力犯罪占 9%，而男性正常对照组 2%；女性精神病患者中暴力犯罪占 1%，而女性正常对照组无一例，提示精神病患者的暴力犯罪有增加的趋势。

对监狱中罪犯的调查，普遍的结论认为罪犯的精神疾病患病率要高于一般人群，其中所占比例较高的精神疾病种类为反社会人格障碍、酒精和药物依赖或滥用、精神发育迟滞、反应性精神障碍和精神分裂症等。例如英国 1971 年 12 926 例在押犯人中，患精神病者占 9.4%，估计变态人格比例高达 40%～60%。

对司法精神病鉴定中的被鉴定人暴力行为的调查，国内有较多的研究报道，结果比较一致地显示出暴力性案件在鉴定案件中居于多数。例如北京安定医院 1984～1996 年期间，司法精神病鉴定的刑事被告人1 515例，其中杀人 268 例(17.69%)，伤害 347 例(22.90%)；赵健聪(1999 年)等人对 1976～1995 年 10 种神经精神科专业杂志中，有关精神病学鉴定的 231 篇文章进行分析，在 9 925 例案件中凶杀 3 847例，占 38.86%，居于各类犯罪类型之首。

近年来，精神疾病流行病学调查的方法得到很快发展，从根本上改变了原来简单调查取样的模式，要求研究中设置匹配的对照组、精神疾病的诊断采用统一的诊断标准、足够大的有代表性的样本等，使得研究结果具有可靠性、可比性，能够得到更科学的结论。比较有代表性的如丹麦 Hodgins S 等(1996 年)，对一个有 324 401 人的出生队列(birth cohort)从出生开始，进行了 43 年的资料回顾研究。由于丹麦对居民的精神疾病和犯罪史有比较完整的记录，Hodgins S 等对同一出生队列中有、无精神疾病住院记录的人进行了对照研究，发现其中至少有一次暴力犯罪记录的个体，在 1959～1977 年间正常人群中女性0.1%、男性 1.9%，精神障碍者女性 3.5%、男性 55.7%；在 1978～1990 年间正常人群中女性 0.1%、男性1.5%，精神障碍者女性7.1%、男性60.6%，显示在丹麦的群体中精神障碍者暴力行为的发生率是高于正常人群的，近年来并有增加的趋势。另一项研究是芬兰 Eronen M 等(1996 年)对凶杀行为与精神障碍的研究，在 1984～1991 年间所发生的 944 例凶杀犯罪中有 693 例经过了司法精神疾病鉴定专家的评定，按美国精神疾病诊断统计手册(DSM－Ⅲ－R)进行疾病诊断，采用国际精神疾病流行病学划区(CEA)调查的数据作为对照，数据显示精神分裂症患者中男性凶杀危险性增加 8 倍，女性的危险性增加 6.5 倍；反社会人格障碍中，男性的凶杀危险性增加 10 倍，女性的危险性增加了 50 倍！

二、有暴力行为的精神障碍种类

在精神疾病与暴力行为的流行病学研究中，各类型精神疾病的分布也是一个引起较多关注的方面。国外研究中较统一的结论是反社会人格障碍与暴力行为关系最为密切。在上述芬兰 Eronen M 等人的研究中也证实了这一点。但是目前在我国的精神疾病诊断中，对人格障碍的诊断还不太普遍，加之反社会人格障碍者的暴力犯罪一般不会提交到司法精神病鉴定中，因此在国内的研究报告中常常缺乏反社会人格障碍者犯罪的数据，或者出现反社会人格障碍者犯罪的比率过低。但是，从另一个角度而言，除去反社会人格障碍可以看到，精神分裂症与暴力行为的联系也是比较紧密的。以下一组数据可以引以为证：方明昭等(1997 年)对北京医科大学精神卫生研究所 1984～1989 年司法精神病学鉴定中共 92 例凶杀作案者，采用中国精神疾病分类方案与诊断标准(CCMD－2－R)及国际疾病分类第 10 版(ICD－

10)的标准进行诊断,其中各诊断分布是:精神分裂症 49 例(53.3%),酒精中毒性精神障碍 10 例(10.8%),抑郁症 9 例(9.8%),反应性精神病 7 例(7.6%),癫痫性精神障碍 6 例(6.5%),偏执性精神病 3 例(3.3%),癔症性精神病、脑器质性精神障碍及人格障碍各 2 例(各 2.2%),精神发育迟滞、病理性激情各 1 例(1.1%);田祖恩等(1998 年)在 160 例精神疾病患者的家庭暴力研究中,显示其诊断为:精神分裂症 102 例(63.8%),精神发育迟滞 17 例(10.6%),癫痫意识障碍或人格改变 10 例(6.2%),反应性精神病 12 例(7.5%),酒精所致精神障碍 3 例(1.9%),癔症 4 例(2.5%),偏执性精神病 3 例(1.9%),情感性精神障碍 5 例(3.1%),脑器质性精神障碍 2 例(1.3%),其他精神疾病 2 例(1.3%);高诚忠等(1999 年)在 1 009 例司法精神病鉴定中,根据 CCMD-2-R 的诊断标准,其中 378 例暴力行为的精神疾病诊断为:精神分裂症 256 例(52.7%),精神发育迟滞 72 例(11.4%),其他精神疾病 55 例(32.0%),无精神病 45 例(28.5%)。

然而,在流行病学的研究中还存在着许多问题,使上述的这些数据并没有很大的说服力。首先,对暴力行为的定义不统一,如某些研究采用的是暴力犯罪,但是各个国家对什么是暴力犯罪的规定有所不同;其次,各研究中得到的统计数字普遍偏低,尤其是来自司法精神病鉴定的资料,如果精神病患者所伤害的对象是家中的亲人,常常是把患者直接送去医治,而不会送到司法精神病鉴定处,或者因为某些司法人员精神病学方面的知识欠缺,对有暴力行为的精神病患者不能识别等等,都会造成数据的漏报。因此在这方面的工作还需要进一步加强。

第二节 精神病暴力行为的特征

与精神正常人群的暴力犯罪相比,精神病患者的暴力行为有其独自的特征。对这些特征的研究,对于区别精神正常的暴力犯罪行为与精神病患者的暴力行为,揭示精神病患者暴力行为的规律,对于有效地制定精神病患者暴力行为的防治措施,以及对维护法律的公正都具有非常重要的意义。但是需要注意的是,这些特征是把有暴力行为的精神病患者作为一个群体而言的,是大多数暴力性患者共有的特点,对于每一个具体的案例而言会有其特殊性,不能简单地运用这些特征去判断某一暴力行为的肇事者是否为精神病患者。

一、一般人口学情况

在有暴力行为的精神病患者的一般人口学诸因素中,包括性别、年龄、文化程度、经济状况等的分布状况,其中的年龄与性别 2 个因素比较有意义。与正常暴力犯罪人群一样,有暴力行为的精神病患者仍是男性多于女性,但是女性精神病患者暴力行为危险性的增加是高于男性的;精神病患者暴力行为的发生年龄,一般比精神正常人群暴力犯罪的发生年龄晚,常在 25 岁以后,在中老年期精神病暴力行为的发生率也会略有上升,故有人称之为"晚发犯罪",这与精神疾病的发病年龄一致,显示出患者的暴力行为与精神症状有联系。例如,方明昭等将 92 例精神病患者的凶杀行为发生年龄,与精神正常凶杀犯罪者相比,前者以大于 25 岁占大多数,后者多数是小于 25 岁的青少年,在精神病组中大于 41 岁的暴力行为高于后者;女性的暴力行为危险性增高,9 名女性有凶杀行为的精神病患者均有亲自杀人的暴力行为,而正常对照组中则仅有 1 例。

二、作案动机

在犯罪学中,对作案动机和目的的研究,是其重要内容。精神异常暴力行为与精神正常的犯罪行为最明显的区别就在于作案动机上的差异。精神病患者暴力行为的作案动机可分为动机不明、病理性动

机、现实性动机、混合性动机。

(一)动机不明

通常发生在有意识障碍如意识狭窄、蒙眬状态或谵妄时,对周围环境的注意、感知觉、思维、记忆、情绪、精神运动行为出现紊乱和不协调,可出现一系列伤害自己或他人的暴力行为,患者对自己的暴力行为已失去了理智的控制。在意识障碍缓解或结束后,常有遗忘或部分遗忘,对在意识障碍中的行为不能作出解释。在精神疾病中常见于各种大脑器质性或功能性损伤的意识障碍如癫痫意识障碍、病理性醉酒、癔症附体状态、病理性激情、病理性半醒状态等。另外,精神分裂症患者也可在其思维、情感、行为严重紊乱时,发生动机不明的冲动性暴力攻击行为。

案例:王某,女,43岁。一天王突然自称是死去的公爹化身,说其女是白虎星,还说白虎星炕上坐,不遭殃也惹祸。其夫听后紧张恐惧,也相信女儿是白虎星;其女也说自己是白虎星。于是,王与丈夫、儿子一起将女儿杀死。精神检查时,王对事情经过多不能回忆,当她知道女儿已经被杀死,如梦初醒,悔恨莫及。王被诊断为癔症附体状态。

(二)病理性动机

精神病人受到幻觉、妄想、思维障碍等精神症状的支配时所发生的暴力行为,患者往往能清楚地说明犯罪的动机和目的,并通常会认为自己的行为是正当的,或是迫不得已的,但是其解释缺乏现实基础,是建立在精神症状上的错误推理和行为反应,难为常人所理解,因此称其动机是病理性动机。例如精神分裂症或偏执性精神障碍患者在幻觉、妄想支配下的凶杀行为,抑郁症患者的"怜悯"杀人、"间接自杀"等。

案例:许某,男性,31岁,高中,技工,已婚。三月来经常失眠,情绪低沉,莫明的焦虑、悲观、绝望感很明显。他认为,"愁事万千,事业和家业一无着落,愧对亲人、苍天和大地。深感活着毫无意义,学习、生活、工作充满困难,身体和精神濒于崩溃,一场悲剧就将来临"。一次自杀未遂。一日晌午持锤将同室熟睡中的林某击死,随后即到公安部门投案。在审理中,许某交代了作案过程,自称"杀死林某,等待处决",希望政府处以极刑。鉴定结论:抑郁发作。杀死林某属于抑郁症的"间接自杀"行为。

(三)现实动机

在精神疾病暴力行为的患者中,也存在着相当部分有现实动机的暴力犯罪,这在司法精神病鉴定中是值得注意的,不能因为有精神疾病这一顶帽子就忽视了这类情况的存在,如绝大多数的反社会人格障碍患者的暴力犯罪都属于有现实动机的犯罪行为。另外,在脑器质性损害或发育障碍时,大脑功能水平降低,常表现为智力障碍,对事物的认识、分析、理解和判断能力受限,在产生现实矛盾或需要时,可能会采取一些不合情理的行为反应,多见于精神发育迟滞、脑外伤性痴呆、老年性痴呆等。也有部分患者在脑外伤后出现人格改变、或癫痫人格改变,原来习惯性的态度和行为方式发生了变化,表现出冲动性行为、易激惹,对行为的控制能力减弱,为琐事或微小冲突等现实动机便发生暴力攻击行为。

案例:刘某,32岁,农民,有癫痫病史11年。某日因琐事受其父亲斥责,立即破口大骂并用砖头将父亲砸死,随后又放火烧毁房屋。在此之前数日,刘表现得焦虑不安,易受激惹,爱与人争吵。精神鉴定时,意识清楚,情绪低落,对自己打死父亲和放火的行为能回忆并追悔莫及。称自己心情不好,乱发脾气,事发当时控制不住自己。

(四)混合性动机

部分精神障碍者也可能在现实性和病理性动机同时存在的情况下,发生暴力行为,时常2种动机对暴力行为都有作用,常难以分清哪一种动机为主。

在目前司法精神病鉴定中,关于这4种动机的分布情况,有一些资料可作参考,如熊才涛(1995年)对40例精神障碍凶杀案的分析发现:现实动机17例,混合动机14例,病理性动机7例,动机不明2例;顾瑞成(1997年)对121例凶杀案中111例精神障碍患者的分析发现:动机不明10例(9.01%),病理性动机48例(43.24%),混合性动机24例(21.62%),现实性动机29例(26.13%)。

三、作案方式

精神病患者暴力行为在作案方式上也有其特点，表现在作案时间、地点和手段的选择，以及作案后表现等各方面均缺乏自我保护性。

（一）作案时间、地点

精神病患者的暴力行为常是不分时间和地点的，其行为具有公开性，暴力行为的发生与精神症状的出现有关系。有的偏执性精神病患者甚至故意选择公共场所实施暴力行为，例如，刺杀美国里根总统的欣克利，伪装成记者，在离里根很近的地方当众开枪射击。

（二）作案手段

多数精神病患者的暴力行为在作案手段上都比较简单，作案工具常是菜刀、斧头、棍棒等伸手可及的身边物品，使用身体力量或是直接徒手作案，极少为智能型犯罪。案前多无预谋，暴力行为具有冲动性和突发性，但是有的偏执型精神病患者也可有预谋。患者在精神症状的支配下，往往对被害对象采取致命性的暴力行为，在手段上具有残酷性，在后果上具有严重性，甚至在被害者死后还进行反复打击。

（三）作案人数

在这一点上比较突出的特点是单独性，绝大部分精神异常的暴力行为常是独自作案，而在精神正常的暴力犯罪中有相当一部分是团伙作案。也有一些情况例外，如集体癔症发作、感应性精神障碍，或精神发育迟滞者在他人利诱、迫使、教唆下参加团伙犯罪。

（四）案后表现

精神病患者作案的无自我保护能力还表现在发案后，大多数没有有意识地伪装发案现场、逃跑、拒捕等，而是滞留于发案现场，有的甚至投案自首，部分患者实施暴力行为后，因受病理动机的影响而采取自杀行为。即使有的患者出现所谓逃跑等行为，其实也可能是在精神症状的支配下无目的地乱走，或是出于生存的本能反应，并没有对行为的性质和后果有本质的认识。被捕后对作案事实供认不讳，讲述作案经过时若无其事，对后果和可能受到的处罚毫不关心，有的偏执型精神病患者能够认识到自己行为的性质和后果，但坚持认为自己行为是正义或出于自卫，究其根本是建立在病理性动机的基础上的。

四、受害者特征

与一般精神正常的暴力犯罪被害人相比，精神病患者暴力行为被害人是常与患者生活、工作在一块儿的人，如：父母、配偶、子女或街坊邻居、同事等。被害人的平均人数是否多于精神正常犯罪的被害人数，并无定论，有的统计倾向于被害人的平均人数多于精神正常者犯罪的被害人数。

第三节　发生机制

对人类暴力和精神异常暴力行为发生机制的研究，由来已久。通过对生物、心理、社会各方面相关因素的研究，已有一些初步的结论。但是由于人类行为的复杂性，至今未形成一个完整而系统的解释，因此对其发生机制的阐述，目前仍处于假说阶段。

一、精神病理

精神病患者出现暴力行为，首先使人注意到的是精神疾病与暴力行为之间的联系，因为并非所有的精神疾病都与暴力行为有关。目前对精神病理学的研究停留在对精神症状的研究，即是哪些精神症状

与暴力行为有关，是通过怎样的途径导致了对其行为的辨认能力和控制能力受到损害。

（一）感知觉障碍

比较常见的有错觉和幻觉。在酒精中毒、癫痫、中毒性精神病、病理性半醒状态等意识障碍时，可出现明显的错觉、幻觉症状，例如出现一些妖魔、鬼怪、猛兽等恐怖性的错、幻觉影像时，患者出于自卫反应会产生攻击行为，出现自伤、伤人等危险行为。幻觉也常见于意识清楚时，如精神分裂症等，幻听、幻嗅等常继发被害妄想，也可能使患者出现暴力攻击行为。命令性幻听是一种比较特殊的幻觉，患者会无条件地服从其指令，而表现出相应的行为，如听到声音命令患者打人、杀人等，患者就会出现打人、杀人等危险行为。

（二）思维障碍

妄想与暴力行为的联系比较确定，Tardiff 与 Sweillam（1982 年）发现长期住院的精神分裂症患者的攻击行为与阳性症状，尤其是妄想、幻听和情感不适有关。国内谢斌（1993 年）对 134 例住院精神分裂症患者攻击行为的前瞻性研究，发现命令性幻听、被害妄想与患者的攻击行为显著相关。王小平等（1996 年）使用精神现症检查量表（PSE），对精神分裂症有无攻击行为者进行对比研究，发现幻觉、妄想和悲观抑郁与攻击有关。暴力行为的出现与妄想的内容密切相关，如患者在被害妄想下对妄想对象采取自卫或报复性攻击行为，或是在嫉妒妄想下对其配偶及妄想的姘夫姘妇进行报复性杀人。也有患者在思维逻辑障碍的情形下出现攻击行为，如一精神分裂症患者，农民，病后潜心专读中医书籍，自称钻研人的优生素质问题，想找一中年人做实验，一天趁人不备之机用斧头打击同村张某头部，在拘留审查时表明自己在做一项科学实验，想查明张的头部所能承受的力量。

（三）智能障碍

有暴力攻击的智能障碍者智商多在轻到中度范围，由于智力低下，理解、判断力差，对违法行为的后果和影响缺乏充分认识，加之对情绪反应和行为的控制能力差，有时为小事激起冲动性攻击行为，或因受人欺负、虐待而产生报复性伤害行为。在智能障碍者中纵火案也是比较常见的。

（四）意识障碍

意识障碍从轻度的嗜睡、昏睡到深度的昏迷。与暴力攻击有关的有 2 种状态：意识蒙眬与谵妄状态。意识蒙眬时意识范围狭窄，可在错、幻觉下对周围人产生攻击行为，事后有部分或全部遗忘。谵妄状态时有明显的定向障碍，强烈的精神运动不协调性兴奋状态，出现大量生动、恐怖的错、幻觉，可产生无目的的暴力性、冲动性攻击行为。

（五）情感障碍

抑郁症出现自杀较常见，部分抑郁症患者出于自杀的目的会产生对他人的凶杀行为，例如，妇女产后抑郁的“杀婴”行为、抑郁症患者杀害配偶及子女后自杀的“扩大性自杀”，以上 2 种情况都是抑郁症患者在病态下认为自己死后亲人或年幼的子女会更加不幸，在自杀前先将亲人杀死以便使亲人脱离苦海，因此也称之为“怜悯性杀人”；另一种情况是通过杀害他人要求刑法处罚的“间接性自杀”。国内唐宏宇等（1999 年）对北京医科大学精神卫生研究所 1987～1997 年的司法鉴定案例的分析发现，抑郁症杀人案共 33 例，占全部杀人案例的 20.2%，多见于焦虑激越性抑郁状态和抑郁性幻觉、妄想状态。情感障碍中的躁狂症患者通常与现实有一定的接触，罕见暴力凶杀行为。

病理性激情是一种较特殊的情况，是在脑部有器质性或功能性的损害之后，出现的一种短暂而强烈的爆发情绪，有轻度意识障碍，在病理性激情状态下可出现暴力攻击行为。

（六）意志行为障碍

与暴力有关的意志障碍是冲动控制障碍，表现为难以控制的意志活动，缺乏现实动机和目的，如纵火狂，比较少见，还有间歇性爆发障碍，患者表现为微不足道的原因可诱发强烈而短暂的冲动性攻击行为，间歇性发作，发作间期无冲动攻击行为，态度温和，能认识到自己的暴力行为并向受害人道歉。另外在某些人格障碍或人格改变的患者，也会发生冲动行为，例如癫痫人格改变者出现反复暴力攻击行为。

二、人格特质

与精神正常暴力犯罪一样，精神病患者病前的人格特质对攻击行为的发生有密切关系。在精神正常的暴力罪犯中，Shoham 等（1989 年）发现暴力罪犯有以下个性特征：多疑、固执、缺乏同情心与社会责任感、情绪不稳定、喜追求刺激、缺乏自信与自尊、应付现实能力与人际交往能力差。明尼苏达多相个性调查表（MMPI）和艾森克人格问卷（EPQ）是常用的人格测量表。Perez（1983 年）运用 EPQ 对监狱内犯人进行了研究，认为 E 分（内、外倾向）和/或 P 分（心理变态倾向）升高的个体具有冲动、冒险和寻求刺激的特征，该特征是触发和维持反社会行为的主要因素。对 MMPI 的研究发现，攻击个体 F 分（诈病分数）、Pd 分（精神病态）、Ma 分（轻躁狂）显著升高，对攻击行为有较好的预测价值。国内谢斌、王小平等对具有攻击危险行为的住院精神分裂症患者的研究，也提示 MMPI 中的 F 分、Pd 分显著升高，显示这类患者具有冲动、好攻击、情绪不稳、易紧张、悲观和人际交往能力差等人格特点。

人格障碍是一类于幼年时期逐渐发展的人格特征的偏离障碍。人格障碍并非精神病，但是它与暴力攻击行为却有着密切的联系。Cuze（1976 年）报道美国监狱出狱的犯人中 70% 为反社会人格障碍，国内费宜诚曾对上海市监狱中的刑事犯人的粗略估计有反社会人格障碍者不低于 20%，尤在累犯及惯犯中多见。这类人格障碍患者以表现缺乏道德观念、易激惹、反复攻击行为、冷酷无情、无罪恶感、不诚实等，给社会、他人和自己带来麻烦，损人不利己，但出现凶杀行为并不常见。偏执性人格障碍以猜疑和偏执为特点，易产生被害的先占观念和病理性嫉妒，可出现攻击、杀人等行为。研究发现，人格障碍者常同时合并有精神病，Swanson MCJ 等（1994 年）报道 90.4% 的反社会人格障碍者至少合并有其他一种精神疾病，其中 4.8% 合并精神分裂症，高于一般社区人群的患病率。在精神病患者中合并反社会人格障碍使暴力攻击的危险性大大地增高了。

三、生物学基础

对暴力行为的生物学基础的研究有比较长的历史，随着对人脑研究的新技术和新方法的出现和运用，近年来取得了很大的发展。

（一）神经病理

“脑损伤”与精神疾病患者出现的暴力攻击有关是其中最主要的假说。在动物实验中观察到，如果摘除了猴的一侧颞叶包括杏仁核和大部分海马，动物出现暴怒行为、恐惧减弱。目前已证明边缘系统特别是杏仁核在正常攻击机制中是一个重要部位；另一重要部位是隔区，被破坏后也能增强攻击行为。对人类的研究开始于 Mark 和 Ervin（1970 年），他们对一例癫痫患者的研究，在患者脑中杏仁核植入微电极后，电刺激会激发患者出现暴力行为。Anderson（1999 年）报道 2 例个案，分别在幼年时期（一例在 3 个月、另一例在 15 个月）均有脑前额叶的外伤史，在 20 多岁接受检查时，发现 2 例个体均表现出明显的道德感缺乏，并有周期性的愤怒爆发。对反复发生暴力行为的罪犯和反社会人格障碍者的研究中，也提示其幼年多有脑外伤史。用脑电图（EEG）对暴力型罪犯或有暴力行为的精神病患者进行研究，多数报道有颞叶脑电波的异常，出现慢波增加，异常率在 20%～60% 之间。例如 Williams（1969 年）研究显示反复暴力行为的犯人存在额叶和颞叶区域的慢波。国内沈祥安等（1992 年）对 165 例有攻击行为的精神分裂症患者与无攻击的患者对照研究，发现攻击组脑电图异常者占 61.8%，54.8% 的杀人行为的精神分裂症患者出现正性棘波。

最近，Richard JD 等研究者（2000 年）对“脑损伤”假说有了进一步的发展，提出：“情绪调节的中枢神经环路功能异常”可能是冲动性暴力行为的病理基础。在人脑中，参与情绪调节的神经环路包括眶额叶皮质、杏仁核、前扣带回皮质和其他几个中间连接区域。在正常个体，这些脑区的作用是：当引起愤

怒等负性情绪的时候，抑制情绪性行为出现。Richard JD 等认为这个中枢神经环路结构或功能异常的个体，对负性情绪抑制出现异常，个体的攻击、暴力行为的危险性就会增高。Richard JD 等定义的情绪性行为也即冲动性暴力行为，是指非预谋的、情绪化的暴力攻击行为。前额叶在这个情绪的神经环路中是一个重要成分，一些研究已经证实了这点。Raine A（2000 年）对有冲动性攻击行为的反社会人格障碍者，用磁共振（MRI）测量发现其前额叶灰质总量减少 11%，另一位研究者 Woermann（2000 年）用 MRI 测量发现有冲动性攻击行为比无冲动性攻击行为的癫痫患者其左侧前额叶灰质减少更显著，约为 17%。Volavka J 等（1992 年）使用正电子发射断层脑影像（PET）技术对反复出现暴力行为的精神病患者进行研究，发现在前额叶和左颞叶皮质的脑血流和葡萄糖代谢率的降低。Raine A（1997 年）对 41 个凶杀犯与正常人对照进行比较，PET 研究发现凶杀犯前额叶区域活性低下，但是右侧杏仁核区活性升高。随后对凶杀组进行分组，情绪性、冲动性凶杀小组比有预谋的对比组前额叶侧区葡萄糖代谢率则显降低，而皮层下区域包括海马、杏仁核、丘脑和中脑的代谢率升高。

总之，脑结构异常与暴力行为的关系较复杂，目前的研究结论还是处于假说阶段。

（二）神经心理

神经心理测试能反映出轻微的脑功能异常。使用神经心理测试对有暴力攻击行为者的研究中，也发现多数被测试者有脑功能异常。对反社会人格障碍者的研究，提示大部分都有额叶和颞叶的功能异常。在住院精神病患者的研究中，发现神经心理功能障碍是较好的预测因子。Krakowshi 等（1989 年）对有攻击行为的精神分裂症患者进行了成套神经心理测试，发现具有高度攻击的患者有明显的神经心理功能异常。Adams 等（1990 年）对男性精神分裂症患者进行 Luria－Nebraska 成套神经心理测验，发现其神经心理功能异常与成年时期暴力史有关，而与住院后的暴力行为无关。Foster 等（1993 年）对 23 例司法鉴定患者，进行 Stroop 测试、非言语智商及 Wisconsin 卡片分类测试，提出这些测试结果对患者的攻击行为有预测能力。国内王小平等（1997 年）对有攻击行为的精神分裂症患者的智力结构进行了对比分析，通过退化商数和 Hewson 比率的计算显示出这类患者存在脑功能性和器质性损害。

（三）激素、神经生化

在暴力攻击行为的内分泌因素中，雄激素是最早被认为与之有关的因素之一，最明显而直接的证据是男性的攻击行为多于女性。对有暴力犯罪史、反社会人格障碍的男性睾丸酮的测量，一些研究显示高于正常水平。如 Rsnen（1999 年）在芬兰住院精神病患者中进行了暴力犯罪与血清睾丸酮水平的研究，结果显示在人格障碍组中罪犯的血清睾丸酮水平是明显增高的，而在精神分裂症组中无此差异。低血糖状态时也观察到易激惹、攻击性增高。在女性还有一种与月经周期密切相关的周期性精神病，由于内分泌的障碍而出现月经前的精神障碍，部分可有兴奋、冲动伤人等行为。

多种神经递质与攻击行为的产生和抑制有关，如去甲肾上腺素、多巴胺、乙酰胆碱、γ－氨基丁酸（GABA）、5－羟色胺（5－HT）等。近年来发展较快的理论假说是中枢 5－HT 系统功能低下与攻击行为的关系。在动物实验中，减少合成 5－HT 前体物质色氨酸的摄入，观察到动物的攻击行为增加，在食物中再增加色氨酸后动物的攻击行为减少。Higley 等（1995 年）对自由放养的成年雄性恒河猴（rhesus monkey）的观察研究，发现脑脊液中游离的睾丸酮浓度的增加与猴子的竞争性攻击有关；脑脊液中 5－HT 的代谢产物 5－羟吲哚乙酸（5－HIAA）的浓度下降，与冲动控制损害后出现的反复严重攻击行为有关。较多的研究提示血清睾丸酮水平是攻击的一个状态指标，而 5－HT 功能低下可能是攻击的特质标记。人类攻击行为的研究包括对血小板 5－HT 受体的直接或间接测量、脑脊液 5－HIAA 浓度的测量、芬氟拉明神经内分泌激发试验观察中枢 5－HT 轴功能等，主要针对了青少年品行障碍、反社会人格障碍、暴力性罪犯、纵火犯、累犯、自杀行为者等，大多数研究均证实了中枢 5－HT 系统功能低下与暴力攻击的发生机制有关。Virkkunen M 等（1994 年）分别对酒精中毒者、暴力罪犯、纵火犯和健康自愿者进行了一系列研究，提出脑脊液中低水平的 5－HIAA 浓度与易激惹和冲动控制障碍有关，而高水平的游离睾丸酮与攻击性增高、追求感官刺激、社会化程度低下等有关。在临床治疗试验中，观察到使用 5－HT

回吸收抑制剂对精神病患者的攻击行为有较好的治疗效果，例如 Vartiainen H 等（1995 年）用一种称为补氯肽氟苯胺（CLP）的 5－HT 回吸收抑制剂对 19 例慢性精神分裂症进行自身前后交叉对照试验，结果观察到患者的攻击行为显著减少，并且这种变化并非精神病症状的改善所致。

（四）遗传

最早提出犯罪遗传论的人可追溯到精神病学家 Lombroso，早在 18 世纪就提出“天生犯罪人”的观点，他指出这种人具有感觉迟钝、触觉不灵、做事冲动、背信弃义、报复心强、残忍和不懂自责等特征。其实 Lombroso 可能指的是一种反社会人格的遗传倾向性。在 20 世纪中期，Jacobs 等（1968 年）对一所医院内的精神异常犯罪人的研究发现，有 3% 的个体多一条 Y 染色体（XYY），研究还发现这种个体表现个子较高，智商略低于正常，易发生攻击行为。该研究报道后一时引起了轰动，但是随后大量的研究发现，XYY 在男性中的发生率并不高，在对一组身高超过 1.84 m 的 4 000 例男性的调查中，发现只有0.3% 的个体是 XYY，而且其中只有不到一半的 XYY 男性有犯罪记录，远低于正常男性的犯罪率。而对反社会人格障碍的家系研究、双生子和寄养子研究已证实遗传因素的存在。

对攻击行为遗传机制的研究近年来取得重大进展，Brunner HG 等（1993 年）报道，在一个荷兰大家系中，14 名男性出现反复发生的冲动性攻击行为甚至暴力行为，并伴有边缘性智力水平，该家系中全部女性正常。对该家系 24 个成员的连锁分析，在 X 染色体上的单胺氧化酶 A（MAOA）位点得到最大连锁值。对患者 24 h 尿分析发现，单胺氧化酶（MAO）的底物增加而产物减少；进而对患者及女性携带者的成纤维细胞进行培养，发现 MAOA 表达降低，将 MAOA 的 mRNA 应用反转录和直接测序方法，发现 MAOA 基因第 8 个外显子处的一个 C→T 产生了突变，该突变使谷氨酰胺密码 CAG 变成了终止密码 TAG。MAOA 是 MAO 中的一类，对 5－HT、肾上腺素和去甲肾上腺素具有氧化降解作用。Cases 等（1995 年）用转基因小鼠成功制成了 MAOA 基因突变的动物模型，观察到雄性成年小鼠攻击行为增加，但是这种突变在有攻击行为的人群中仍是极少数。

随着分子遗传学的发展，一些研究者直接对某些神经递质或其代谢酶的基因展开了研究。如儿茶酚胺－氧－甲基转移酶（COMT）基因是脑内儿茶酚胺的一种代谢酶基因，COMT 基因第 158 位密码子有一个 G→A 替换，会导致 COMT 酶活性明显降低。有多篇研究报道该低活性的等位基因与精神分裂症的攻击行为危险性增高有关，如 Strous RD 等（1997 年）发现具有低活性等位基因 A 的纯合子的精神分裂症患者发生攻击行为的危险性增高；Kotler 等（1999 年）对有凶杀行为的精神分裂症的研究，也报道患者凶杀行为与 COMT 低活性的等位基因有关。

5－HT 功能异常与暴力攻击的遗传研究也显示二者的相关性。对 5－HT 受体或转运体基因的研究，有报道与自杀行为有关，自杀其实也是一种攻击行为，是指向自我的攻击。Hallikainen T（1999 年）报道，由于 5－HT 转运体基因启动子区的一个 44 个碱基缺失而导致酶活性的低下，与具有反社会人格障碍、和早发年龄的酒精中毒患者出现冲动性习惯性暴力行为有关。色氨酸羟化酶（TPH）是 5－HT 生物代谢的限速酶，Manuck 等（1999 年）报道，TPH 基因第 7 内含子的 A218C 多态性与攻击愤怒的人格特质有关。

这些研究报道说明精神异常的暴力攻击行为可能存在着遗传基础，至少在少数患者中是如此。

四、环境因素

对精神病患者攻击行为的环境因素的研究，大部分集中在精神病院内。强制性住院本身就是攻击行为的一个激发因素，在院内的不太和谐的医患关系也是激发攻击的一个重要方面。研究显示居住环境的拥挤与攻击行为的发生有关，如国内张少平等（1997 年）对社区中精神病患者的暴力行为进行了随访研究，发现居住环境差及不良的社会关系与患者暴力行为的发生有关。Volavka J（1997 年）根据世界卫生组织的调查数据提出不同国家的文化差异与精神病患者的暴力行为有关。多数研究还发现早年的

不良家庭环境、成年期的不良社会文化环境、缺乏社会支持、带有负面影响的生活事件等对患者暴力攻击行为的发生有影响。社会学习理论认为有的暴力罪犯，其幼年期本身就是暴力行为的受害者；电影、电视中的攻击行为也有不良影响，可降低人们对攻击的抑制，还可学习到新的攻击方法。酒精和药物滥用近年来有逐渐上升的趋势，所导致的行为障碍、犯罪、暴力攻击行为也逐渐增加，正成为一个被社会日益关注的问题。

第四节　精神病暴力行为的预测与预防

对精神病患者暴力行为的研究，根本目的在于对其进行有效的预测和预防。由于精神病患者暴力行为的社会危害性，对精神病患者暴力行为的预测和预防具有重要的社会意义，尤其在促进社会法制建设，保障精神病患者的合法权利又有效地维护社会的安定，减少精神病患者的社会危害行为等方面具有重要作用，也是司法精神病学的一个重点课题。

一、预测

精神病患者暴力危险性的预测，包括对无暴力行为的精神病患者将来可能发生暴力危险行为的预测，又包括对已有一次暴力行为史的患者再次发生这种行为的可能性的预测。需要注意的是并非所有的精神病患者都会发生暴力攻击行为，发生这种行为的只占少数。要求对这部分患者的暴力危险行为做出准确可靠的预测，仍是目前亟待解决的问题。

对精神病患者暴力行为的预测，首先需要从其相关的因素入手，在许多的相关因素中筛选出暴力行为的高危险因子，最后再根据这些因子做出暴力危险性的推断。由于人的行为是受多因素影响的综合结果，因此在考察精神病患者的暴力行为高危险因子时，应全面考虑生物、心理、社会多层面的相关因素。本章在前面部分已将相关因素进行了分别叙述，与暴力行为有关的主要因素总结如下。

生物因素：性别、年龄、智力水平、脑外伤和脑病史、脑电图异常、家族暴力行为史、精神病及精神症状、神经内分泌（雄激素水平）、胆固醇水平、中枢神经递质（5－HT等）功能状况、有无XYY异常染色体核型等。

心理因素：人格特点、神经心理功能异常、行为方式和应付方式、既往攻击史等。

社会因素：种族、职业、婚姻、经济状况、居住情况、社会支持、酒精药物滥用等。

在上述诸多因素中，目前多数研究认为，对精神病患者暴力行为最可靠的高危险因子是既往的暴力行为史。也有研究者提出对精神病患者暴力行为有效的高危险因子包括：幻觉妄想症状、反社会性和偏执性人格、脑损伤及脑电图异常、神经心理功能异常、5－HT功能低下、幼年不良发育环境、酒精药物滥用等。N. Gelder等（1983年）将暴力行为的预测因子总结成为4个方面：①历史：一次或多次暴力行为事件、反复出现冲动暴力行为、有证据表明难于应付精神刺激、欲望满足的迫不及待和不愿延迟、虐待狂性或偏执性人格特征；②过去的暴力行为：荒诞的暴力行为、没有任何刺激无端发生、事后不后悔、一直不承认暴力行为的事实；③精神状况：病态嫉妒、偏执信念且有危害他人的想法、欺骗、丧失自我控制、扬言要再使用暴力、拒绝治疗；④环境：刺激或诱发因素很可能再现、酒精或药物滥用的方便条件、社会处境困难和得不到别人的支持。

精神病患者暴力行为的预测开始于医生和心理学专家对暴力行为的临床预测，这种预测通常是经验性的，难以排除主观性，医生和心理学专家在预测时总是倾向于“宁可错在安全的一边”，导致了临床预测有很高的假阳性，也使得人们对临床预测的准确性持怀疑态度。在司法精神病学实践中，需要对预测的准确性进行评估。

衡量预测准确性有2项指标，即预测的信度和效度。对信度的评估，首先要求对作为预测对象的暴力行为要有一个统一的标准或规定，比如一些研究中采用暴力型罪犯作为研究对象，但是暴力型犯罪在

各个国家之间的定义会有差别，而造成研究的结果难以比较。为了提高可信度，一些研究者编制了用于评定暴力或攻击行为的量表，如常用的 Buss 和 Durkee（1957 年）的 Buss－Durkee 敌意问卷，包括直接攻击、间接攻击、言语攻击和易激惹 4 个分量表，共 75 题；另一个影响较广的是 Yudofsky 等（1986 年）的外显攻击行为量表（OAS），1988 年 Yudofsky 对 OAS 进行了修订，形成修订的外显攻击行为量表（MOAS），该量表包括言语攻击、财物攻击、自我攻击和对他人的躯体攻击 4 个分量表。有了这样的评定工具，使各研究以及同一研究前后的暴力、攻击行为有了一个可以比较的标准，增加了研究的可信度。

在近 10 来年，多因素统计分析方法的运用，大大提高了对暴力行为预测的效度，尤其是对住院精神病患者攻击行为的预测具有较好的准确性，例如 Kay 等（1988 年）根据多因素作用的理论编制的攻击危险性量表（ARP）。对院外精神病患者攻击行为的预测，由于社区环境中难以控制的社会、情景因素的增加，使得攻击的预测准确性受到影响。另外，在对效度进行评定时，也应注意到情景因素的改变，因为常常在进行效度的观察过程中，对攻击危险性高的患者会采取一些干涉措施，如药物等以减小其危险性，但是同时也影响了对预测效度的评定。国内王小平等研究者（1997 年）对精神分裂症攻击行为进行了较系统的预测研究，通过对 150 例精神分裂症攻击组与非攻击组对照，从人格特征、智力结构、脑电图、社会支持和早年不良家庭环境等多方面进行多因素相关和回归分析，得到了一个敏感性达 90.4%、特异性达 83.6% 和总准确率达 87.2% 的回归预测模型，并根据该模型制定了一个 21 条目的攻击行为预测表，在进行评定时如果攻击指数总分大于非攻击指数总分，即表示预测患者将发生攻击行为，该预测表有一定的实用性，详见表 22－1。

表 22－1　社区精神分裂症患者攻击行为预测表

条　目	结果	攻击组中构成比（%）	非攻击组中构成比（%）	攻击指数	非攻击指数
1. 年龄（岁）	≤39	80.8	61.3	9	8
	≥40	19.2	38.7	3	6
2. 性别	男	87.9	38.2	9	6
	女	12.1	61.8	1	8
3. 既往攻击行为史	有	74.7	15.3	9	2
	无	25.3	84.7	4	9
4. 早年父和（或）母患精神病	有	16.7	7.3	2	－1
	无	83.3	92.7	9	10
5. 早年父和（或）母酒精滥用	有	42.7	11.3	6	1
	无	57.3	88.7	8	9
6. 酒精滥用史	有	27.3	8.0	4	－1
	无	72.7	92.0	9	10
7. 近 3 个月重大生活事件	有	18.0	6.7	3	－2
	无	82.0	93.3	9	10
8. 自杀行为史	有	19.9	9.3	3	0
	无	80.1	90.7	9	10
9. 悲观抑郁	有	23.3	4.0	4	－4
	无	76.7	96.0	9	10

续表 22－1

条　目	结果	攻击组中构成比(%)	非攻击组中构成比(%)	攻击指数	非攻击指数
10. 被害妄想	有	70.7	56.0	8	7
	无	29.3	44.0	5	6
11. 冲动行为	有	34.7	0.7	5	－10
	无	65.3	99.3	8	10
12. 易激惹	有	61.3	12.0	8	1
	无	38.7	88.0	6	9
13. 诊断分型	偏执型	44.7	27.3	6	4
	非偏执型	55.3	72.7	7	9
14. 从家庭中得到的支持	少或无	15.3	4.0	2	－4
	中等	82.7	80.0	9	9
	多	2.0	16.0	－7	2
15. 紧急情况下感情支持来源	少或无	60.0	18.7	8	3
	中等	33.3	53.3	5	7
	多	6.7	28.0	－2	4
16. 生活满意度	不满意	30.7	14.7	5	2
	过得去	58.7	73.3	8	9
	满意	10.6	12.0	0	1
参考条目					
17. Hewson 比率	＜1.3	74.7	87.3	9	9
	1.3～1.5	16.7	9.3	2	0
	＞1.5	8.6	3.3	－1	－5
18. MMPI－Rc(分)	≤59	93.8	82.7	10	9
	≥60	6.2	17.3	－2	2
19. MMPI－Pd(分)	≤59	55.4	72.3	7	9
	≥60	44.6	27.7	6	4
20. MMPI－F(分)	≤59	51.4	62.2	7	8
	≥60	48.6	37.8	7	6
21. 脑电图	正常	32.6	67.7	5	8
	异常	67.4	32.3	8	5
总　分					

注：摘自中华精神科杂志，1997.30(1)：22

在对精神病患者暴力行为的预测中，其核心问题是预测准确性，由于其暴力行为的发生机制目前仍不清楚，所以预测通常难以达到理想的满意度。并且，预测的准确性是与时间有关的，针对短期的预测准确性肯定比针对长期的高。另外，还有一些因素也对预测的准确性有影响，如研究对象的不一致性、

研究设计缺乏前瞻对照、预测中统计学的普遍性与个案的特殊性之间的矛盾等，是在以后的研究中应注意的问题。

二、预防

（一）医学预防

由于精神病患者暴力行为的产生与其精神疾病有着密切的关系，在对精神病暴力行为的预防措施中，首先应该采用的是医学预防，重点在于消除患者的危险倾向性。在医学预防中，一般主要有以下几种措施。

1. 精神外科治疗　在20世纪前半叶，出现了精神外科手术治疗有暴力危险的精神病患者的方法。1936年，葡萄牙医生Moniz探索并开创了额叶白质切断术，用于治疗精神病患者取得了较好疗效，因此获得了诺贝尔奖。美国医生Freeman对该手术进行改进后，对80例患者取得了比较好的疗效。20世纪40年代，精神科外科手术治疗广为流行，据估计，在美国有数万人接受了这种治疗。但是，在对患者的术后长期观察中发现有许多的不良后果，比如患者可能由术前的兴奋、躁动转为术后出现迟钝、退缩、木僵等症状，由于大脑的破坏出现癫痫发作、尿失禁等躯体症状。在1947年，Spiegel开始运用立体定向手术于临床，由于是对大脑深层细胞核实施的定向破坏，对大脑皮层的影响较小，因而术后的副作用也大大减少。1977年美国精神外科委员会公布，对于各种治疗无效的精神病患者，使用立体定向手术有效率达78%。后来的观察，虽然对幻觉妄想等精神症状立体定向手术的治疗效果并不确定，但对兴奋躁动、有暴力攻击行为的精神病患者实施立体定向的丘脑下切断术，其效果却是相当明显的。由于精神外科手术毕竟是一种破坏性的治疗措施，所以在临床上的应用受到了严格限制，目前对于个别反复出现冲动暴力行为的患者仍有应用。

2. 药物治疗　抗精神病药物在20世纪中期得到了迅速发展，目前是精神疾病治疗的首选方法。对于有攻击行为的患者的治疗一般与其精神病的治疗方法相同，当精神病或原发病如癫痫得到控制后，一般攻击行为也会得到相应的改善。有些研究者尝试使用一些药物来对攻击行为进行针对性治疗，如有报道苯妥英钠对改善精神病患者的攻击有效。但是总的来说目前的药物治疗仍是没有达到令人满意的疗效。

3. 医疗监护　对有暴力攻击危险的精神病患者还有一种特殊的措施即“强制性医疗和监护”，我国的《刑法》十五条有明文规定：“精神病人在不能辨认或者不能控制自己行为的时候造成危害结果，经法定程序鉴定确认的，不负刑事责任，但是应当责令他的家属或者监护人严加看管和医疗；在必要的时候，由政府强制医疗”。但是这种措施毕竟是违反患者意愿的强制性措施，所以在实施过程中会涉及人权的保护与强制时限等问题。在英国针对强制入院有若干法律规定，比如把强制入院分为暂时性入院、命令入院和紧急命令入院，入院需要患者配偶或近亲及2位医生署名的证明书，对强制性住院也有时间限制，并且设立了复查程序，患者有权对强制入院向管理委员会提出意见或向法院提出控告。在美国，强制性入院是由法官来决定的。医疗监护的机构一般是一种既有比较严格的安全保卫措施，同时又有必要的医疗措施的地方，比如英美等国的安全医院。在我国近年也建起了由公安部门管理的“安康医院”，对各类有危险行为的精神病患者进行监管和治疗，防止患者对社会和自己产生危害。

（二）社会预防

社会对有暴力攻击倾向的精神病患者的预防主要在两方面，一是社会监护，另一方面是社会教育。

1. 社会监护　我国《民法通则》第十七条对精神病的监护人做出了规定，监护人由以下人员承担：配偶、父母、成年子女、其他近亲属，关系密切的其他亲属、朋友愿意承担监护责任，经精神病患者的所在单位或住所地的居民委员会、村民委员会同意的。但是实际上，由亲属实施的监护也常常是亲属成为患者暴力行为受害者的原因，因为亲属往往倾向于对患者的危险性做出较低的估计。在社区中建立起来

的社区精神卫生服务机构是一个较好的社会监护机构，精神卫生专业人员在机构内进行治疗或定期对患者进行访问，既有利于患者的精神康复，同时又能在社区环境中对患者的危险性随时进行评估，进而采取有效的预防措施。上海市虹口区精神卫生中心曾在1982～1987年，对有暴力行为的精神病患者开展了15年的社区家庭干预研究，干预方法包括对家属及看护人员的精神医学知识培训、社区精神医学常识宣传、社区精神卫生工作人员的定期访视和治疗等，结果观察到患者暴力行为的减少极为显著。可见社区精神卫生网监护对减少精神病患者的暴力危险性是一个既经济又有效的方法，也是今后精神病患者暴力行为的社会预防的主要措施之一。

2. 社会教育　教育是针对各种社会不良行为的必要而有效的预防措施，对一些有暴力行为倾向性的人群尤其重要，如品行障碍的儿童、青少年、人格障碍者、酗酒和药物滥用者等，加强社会法制教育，提高教育文化水平，着重进行思想品德教育，改变其不良的行为，对暴力攻击行为的预防都是有效的。

第五节　精神病患者暴力行为的刑事责任能力

精神病患者对他人身体施加的严重伤害、甚至死亡是暴力行为，就行为本身而言是一种违背刑法的犯罪行为，但是有犯罪行为并不是犯罪，承担刑事责任必须是具有刑事责任能力的行为人，随之而来的是精神病患者犯罪行为的刑事责任的评定问题。

一、概念

刑事责任能力是一个刑法学的概念，指行为人所具有的承担刑事责任所必需的辨认和控制自己行为的能力。有无刑事责任能力对于是否承担刑事责任具有决定性的影响，即在实施违法行为时如果具有辨认和控制自己行为的能力，为有刑事责任能力，行为人应当承担刑事责任；反之，在实施违法行为时如果不具有辨认和控制自己行为的能力，为无刑事责任能力，行为人不应当承担刑事责任。

刑事责任能力的完整性受到多种因素的影响，第一个影响因素是年龄，辨认能力和控制能力是与个体的生理和心理功能的发育相关的，其中心理功能包括人的认知、情感、意志、行为过程及调控能力，只有当这种生理和心理功能的发育成熟达到一定水平，通常在刑法上定义为一个适当的年龄时，才认为具有刑事责任能力。另一个影响因素是个体的精神状态，在现代精神医学中精神疾病被定义为在各种生物学、心理学以及社会环境因素的影响下，大脑功能失调，导致认知、情感、意志和行为等精神活动出现不同程度障碍为临床表现的疾病。可以看到精神疾病对个体的辨认能力和控制能力有影响。精神疾病作为一种疾病，对患者而言患精神疾病是不以自己意志为转移的，而且一般带来的是痛苦和不愉快的体验。因此精神病态下出现的暴力行为，与故意或过失而实施的违法行为有着本质的区别。另一类比较特殊的情况是某些生理缺陷如聋哑、盲，由于感知觉器官的功能缺陷而影响精神活动的基本感知功能，认为其刑事责任能力是不完全的。

二、评定标准

科学地判断责任能力是司法精神病学鉴定的核心任务。在对精神病患者刑事责任能力的评定过程中，历史上曾经出现过3种标准：纯医学标准、纯法学标准、医学－法学标准。纯医学标准是从生物学角度出发，仅以患精神疾病作为认定刑事责任能力惟一标准，也即"有病无罪论"的观点，如1810年《法国刑法典》就是采用的这一标准，宣布患严重精神障碍的人无刑事责任能力，如今在一些人的观念里也存在着这一错误认识，纯医学标准最主要的缺点在于忽视了精神障碍与行为人的犯罪行为之间的具体联系，将疾病的观点泛化；与之相对应的是纯法学标准，这主要存在于一些法学研究者之中，否认精神疾病

对人的辨认能力和控制能力的影响，只看到犯罪行为这一事实。当然，以上这2种观点都是片面的，在司法精神病学的发展中均已被抛弃。

目前广为接受且遵行的是医学－法学标准，该标准在刑事责任能力的评定时包括2个要件：即医学要件和法学要件。二者是有机地联系在一起的必不可缺的整体，不能独立开来分别判断，而应是在一个连续的过程中考察行为人在行为时的精神状态和辨认、控制能力。在刑事责任能力的评定过程中，医学要件是判断行为人是否存在刑法规定的精神障碍，在我国刑法中的精神障碍只是一个泛称，指凡是能使个体在实施行为时的辨认能力或控制能力受到损害的各种精神异常。精神障碍在各国法律中的规定是有差异的，如1988年日本颁布的《精神保健法》明文规定：精神障碍包括各种精神疾病、精神发育不全和变态人格。在医学要件的评定中往往需要对精神疾病做出临床诊断，以及精神疾病的性质、程度和疾病病期。法学要件是指对自己行为的辨认能力和控制能力。辨认能力是控制能力的前提，辨认能力是通过正常的认知活动来实现的，是对自己行为的性质和后果的辨认能力，是一种实质性的辨认能力。控制能力是在辨认能力的前提下，对自己行为活动的启动、幅度、进程和终止的自觉调整过程。辨认能力和控制能力在精神正常的人是和谐而统一的，在精神障碍者，辨认能力的丧失，其控制能力也相应失去；在少数情况下，当辨认能力存在时，患者对自己行为的控制能力也会出现受损或丧失。在对刑事责任能力进行评定时，最关键之处在于评定医学要件与法学要件之间的因果关系，如暴力犯罪行为的发生是否由于精神疾病的影响而导致患者对该行为的辨认或控制能力受损或丧失。

三、历史和现状

有关责任能力的法律规定可以追溯到我国的周朝，当时有法规定对“幼弱、老耄、蠢愚”者犯罪后给予赦免。在古犹太法典中也曾制定“痴愚、幼儿与聋哑的人在造成伤害时不该处罚”的规定。但是真正重视精神疾病患者的刑事责任能力还只有数百年的历史，在这方面英国最具有代表性。在1625年，英国皇家法官Henry Bracton指出犯罪的精神病患者由于精神错乱而不存在犯意，不应当予以处罚。其后，1724年大法官Tracy在审理Edeward Arnold案件时，根据Bracton的观点指出“完全丧失了其理解力和记忆力，不知道他在干什么，就如同未成年人，如同动物和野兽一样”，不应当受到惩罚，后来该思想被称为“野兽检验”（Wild Beast Test）。1800年，发生了James Hadfield刺杀英皇乔治三世案件，James Hadfield是一位精神病患者，他认为上帝将毁灭世界，企图刺杀皇帝而达到牺牲自己拯救世界的目的，大法官Loyd Kenyon向陪审团提出“由于处于精神错乱状态，他对自己的行为不应承担刑事责任”，这是对精神病患者的刑事责任能力的第一个规定。最具有历史意义的是1843年英国颁布的“麦克纳顿条例”（McNaughton Rules）。麦克纳顿条例的订立缘于1843年英国伦敦发生的麦克纳顿案件，Doniel McNaughton是一位偏执型精神分裂症患者，他认为当时执政的保守党时刻在监视、跟踪和迫害他，而决定刺杀首相Robert Peer，结果将首相秘书Edward Drummond误认为是首相Peer而将其开枪打死。后来麦克纳顿被判无罪免除死刑，这一事件激起了公众的强烈反响，英国女皇和上院要求法官们就公众的一系列质疑做出解答，因此形成了著名的麦克纳顿条例。条例的核心内容是：“如果被告人以精神错乱为理由进行辩护时，那么必须能清楚地证明他在进行危害行为的当时，由于患精神疾病而处于精神错乱状态，例如他不了解自己行为的性质，或者他虽然了解但不知道自己的行为是错误的或违法的”。该条例明确地提出精神病人辨认能力的丧失与刑事责任能力之间的关系，成为英美等国判定精神病人违法行为责任能力的标准，并对世界上大多数国家对精神病患者违法行为责任能力的刑事立法产生了巨大影响。

麦克纳顿条例在产生巨大影响的同时，也一直遭到批评，这是由于条例本身的缺陷所造成的，主要是没有考虑到精神病患者的“控制能力”方面的问题。实际上，精神病患者是完全有可能在其辨认能力存在的情况之下，却不能控制他的行为。因此，美国在1954年订立了“不可抗拒冲动条例”（Irresistible

Impulse Rule)。与此同年,在美国哥伦比亚特区出现可以"因精神错乱而无罪"(not guilt by reason of insanity, NGRI)的"杜尔汗条例"(Durham Rules),但是该条例因为过分强调了"有病无罪论"而最终被抛弃。1962 年,美国法律研究所(American Law Institute, ALI)在《标准刑法典》中制订了"ALI 条例",其内容是:(1)如果一个人的犯罪行为是由于有精神疾病或精神缺陷,使其在辨认自身行为的错误或违法性,或使其行为符合法律要求方面缺乏实质性能力,那么他对其行为不负刑事责任。(2)本条例所用的精神疾病或精神缺陷术语,并不包括那些屡次犯罪或其他反社会行为的异常表现。ALI 条例考虑到了辨认能力和控制能力,提出缺乏的是"实质性能力";而且对精神疾病做出了限定。该条例完善了麦克纳顿条例,受到广泛欢迎。1982 年,刺杀里根总统的"欣克利案件"之后,精神病无罪辩护受到了严格的限制,经法院裁决为无刑事责任能力而被判无罪的情况是很少的。

其他一些有代表性的例子,比如法国 1994 年通过的新《刑法典》一百二十二条第一款规定:"在行为发生之时患精神紊乱或神经精神紊乱,完全不能辨别或控制自己行为的人,不负刑事责任。在行为发生之时,患精神紊乱或神经精神紊乱,损害或有碍与辨别或控制自己行为的人,仍得惩处之;但法院得酌情量刑并确定刑罚制度";日本的司法精神病学受西欧的影响较大,1907 年的《日本刑法典》中提出"心神丧失者的行为,不处罚;心神耗弱者的行为,减轻处罚";俄罗斯 1996 年颁布《俄罗斯联邦刑法典》在刑事责任能力方面对原规定做了许多改动,第二十一条规定:"在实施危害社会的行为时处于无刑事责任能力状态的人,即由于慢性精神病、暂时性精神失常、痴呆症或其他心理病态不能意识自己行为(不作为)的实际性质和社会危害性,或者不能控制自己行为的人,不负刑事责任",第二十二条规定:"一、有刑事责任能力的人,在实施犯罪时由于精神病而不能完全意识自己行为(不作为)的实际性质和社会危害性,或者不能完全控制自己的行为的,应负刑事责任。二、不排除刑事责任能力的精神病,法院在处刑时应当予以考虑,它也可以成为判处医疗性强制方法的根据"。

在我国,对精神病患者刑事责任能力的明确规定是始于 1979 年新中国的第一部《刑法》,其中第十五条第一款规定:"精神病人在不能辨认或者不能控制自己行为的时候造成危害结果的,不负刑事责任;但是应当责令他的家属或者监护人严加看管和医疗"。1997 年 10 月,新《刑法》开始实施,对精神病患者的法律能力作了更明确而合理的修订。新《刑法》第十八条第一款规定:"精神病人在不能辨认或者不能控制自己行为的时候造成危害结果,经法定程序鉴定确认的,不负刑事责任,但是应当责令他的家属或者监护人严加看管和医疗;在必要的时候,由政府强制医疗",第二款规定:"尚未完全丧失辨认或者控制自己行为能力的精神病人犯罪的,应当负刑事责任,但是可以从轻或者减轻处罚"。其中重要的修订有二点:首先,规定对精神病患者的刑事责任能力的鉴定,须经法定程序,包括有法律授权的鉴定人、合乎法律规定的鉴定程序、由司法机关确认的鉴定结论,才是有效的;其次,对无刑事责任能力的精神病患者,必要时政府有"强制医疗"权;第三,对精神病患者的刑事责任能力的划分由原来的"二分法"转变为"三分法",即增加了部分责任能力一类,对尚未完全丧失辨认或者控制自己行为能力的精神病患者,可以从轻或者减轻处罚。从以上这些例子可以看出,在历史演变过程中,大多数国家对精神病患者的刑事责任能力的评定逐渐遵循了医学-法学标准,并且其评定的标准和内容逐渐趋向统一。

第六节 暴力行为的司法精神病鉴定

司法精神病鉴定是司法精神病学的应用,是其核心和主要任务。在司法审理中,有暴力行为的当事人的司法精神病鉴定通常是对其刑事责任能力的鉴定,在司法精神病鉴定中最为多见。本节就鉴定的过程中一些尤其值得重视的关键问题进行讨论,包括:鉴定前,暴力行为当事人精神异常的发现、司法精神病鉴定的提起;鉴定中,合法的鉴定程序的实施、鉴定结论的确认;鉴定后,对精神病患者的处置等。

一、鉴定前

在司法精神病鉴定前，涉及的问题有暴力行为当事人精神异常的发现、司法精神病鉴定的提起、鉴定所需相关材料的收集和整理及司法精神病鉴定的委托，以下就前2个问题提出来作一些讨论。

（一）精神异常的发现

根据法律的规定，各级司法人员在司法审理过程中，若发现当事人有精神异常时，都应当及时委托专家对其进行司法精神病鉴定。那么，有哪些情况提示当事人可能有精神异常呢？

1. 作案过程表现异常 ①作案动机不明或离奇；②缺乏自我保护性，表现在案前无预谋、作案具有公开性和突发性、作案手段简单而残暴、作案工具具有随意性、多单独作案、案后无害怕和悔罪表现等；③受害者多为近亲属、邻居、同事等。

2. 收审和关押期间行为异常 在收审和关押期间，观察到当事人胡言乱语、行为怪异、睡眠紊乱、不守监规等。

3. 精神表现异常 有精神病史，或案发前有精神异常表现史，如确凿的证据反映案件当事人有离奇的言语、行为，因为大多数的精神病都有一个疾病发生、发展的变化过程，多在案前就有异常表现。

4. 有精神病史 当事人或家属、或周围人员反映有精神病史，或反映当事人性格乖戾、情绪不稳、行为冲动、头脑简单、有抽搐发作的病史等。

（二）司法精神病鉴定的提起

司法精神病鉴定由谁提起，是一个有争议的问题。在英美国家，一般控辩双方都可以提出鉴定，由于犯罪嫌疑人在法律上被推定为精神正常，无刑事责任能力的举证应当由辩方承担，因而刑事责任能力的司法精神病鉴定通常是由辩方提出。在法、日等大陆法系国家，司法精神病鉴定可由当事人一方、检察院提出，是否鉴定一般由法官决定。在我国，新的刑事诉讼法颁布之前，司法精神病鉴定是由司法机关提起，鉴定单位也只接受司法机关的委托，鉴定结论只对委托单位负责。当事人和辩护人可以提出补充鉴定或重新鉴定的申请，经由人民检察院或人民法院审核通过后，以司法机关的名义向鉴定单位提起司法精神病鉴定。1996年，修订的《刑事诉讼法》第三十七条规定“辩护律师经证人或者其他单位和个人的同意，可以向他们收集与本案有关的材料”，即被告人及其辩护人可以自行收集证据。这样就出现了一个问题：“个人”可否自行提起、委托司法精神病鉴定？作为司法精神病鉴定的鉴定结论不是一般的证据，是一种特殊的证人证言，作证的是具有专门知识的人，也被专称为专家证人（expert witness）。“个人”委托鉴定的一个最大的问题是难以保证所提供的鉴定材料的客观性和全面性，因此会对鉴定结论产生较大的影响；但另一方面，如果完全是“官方”委托，是否提起鉴定完全取决于司法机关执法人员的司法精神病学知识、经验和执法态度，也不利于充分保护犯罪嫌疑人、被告人的合法权益，可能会有失法律的公正。《人民检察院刑事诉讼规则》提出了一个解决办法，该规则第二百五十五条规定“在审查起诉过程中，发现犯罪嫌疑人有患精神病可能的，人民检察院应当对犯罪嫌疑人进行鉴定；犯罪嫌疑人的辩护人或者近亲属以犯罪嫌疑人有患精神病可能而申请对犯罪嫌疑人进行鉴定的，人民检察院也可对犯罪嫌疑人进行鉴定，并由申请方承担鉴定费用”。在实际鉴定工作中，已显示出这是一个很好的解决办法，辩护人、近亲属、被告人或犯罪嫌疑人提出进行司法精神病鉴定的申请和相关证明材料，经由司法机关对鉴定材料的客观性、全面性、合法性进行考证和保证，使得鉴定结论建立在客观、真实的基础上。

二、鉴定中

在新《刑法》十八条中，增添了“经法定程序鉴定确认的”的规定，其中包括了2个内容，即合法的司法精神病鉴定程序和鉴定结论的确认。

（一）合法的司法精神病鉴定程序

1. 鉴定单位和鉴定人的合法性　1996 年的《刑事诉讼法》第一百二十条中规定“对精神病的医学鉴定，由省级人民政府指定的医院进行。鉴定人进行鉴定后，应当写出鉴定结论，并且由鉴定人签名、医院加盖公章。”在此条中，对鉴定单位法定资格的认可做出了明确规定，具备司法精神病鉴定能力的医院需得到省级人民政府的指定授权，才有资格进行鉴定，而其他任何单位所作的精神病鉴定都不具备法律效力。在刑事诉讼法中，没有对鉴定人的资格认定作出规定，通常公认的仍是 1989 年颁布的《精神疾病司法鉴定暂行规定》中提出的标准：①具有五年以上精神科临床经验并具有司法精神病学知识的主治医师以上人员；②具有司法精神病学知识、经验和工作能力的主检法医师以上人员。鉴定人是诉讼参与人，应对自己所作出的鉴定结论承担法律责任，而且如有需要还依法出庭作证，答复法庭质疑。参与鉴定的医院与鉴定人之间，医院起着对鉴定人的资格和身份进行保证，参与鉴定过程的管理等作用。

2. 鉴定过程的合法性　司法鉴定只接受司法机关的委托，在接受委托时需是司法机关的人员递交的以司法机关名义的鉴定委托，并要求来人填写司法精神病鉴定委托书，检查所带来的材料是否完全，如有需补充的，应及时提出。对鉴定基本步骤也有一定的要求，一般包括鉴定前详细而全面的阅读卷宗、细致而灵活的精神检查、常规体格检查和辅助检查、鉴定讨论、书写合格的司法精神医学鉴定书等。

（二）鉴定结论的确认

司法机关对司法精神病鉴定的鉴定结论确认，不能只看鉴定结论，首先应对鉴定书作全面仔细的阅读和审核，鉴定书的格式和内容是否合理合法，鉴定是否按法定的程序进行，鉴定所采取的材料是否具有合法性等。只有经司法机关确认后的鉴定书才可作为诉讼证据。

三、鉴定后

鉴定后较突出的问题是对有暴力行为的精神病患者如何处置，毕竟这类精神病患者是不同于一般无暴力行为的精神病患者。

（一）无刑事责任能力的精神病患者

许多国家在刑法中规定了对无刑事责任能力的精神病患者当事人进行强制收容或强制医疗。在我国，有 2 条解决途径，一是“责令他的家属或者监护人严加看管和医疗”，另一条是“必要时由政府强制医疗”。

（二）有刑事责任能力的精神病患者

有完全或者部分刑事责任能力的精神病患者，应对其受审能力进行鉴定，如有，接受审理裁决；如无，政府采取强制性的监护和医疗，定期对受审能力的恢复进行评价，恢复后仍旧进行审理裁决，裁决有罪者，这时，如有需要，还应对其服刑能力进行鉴定，有服刑能力者，就应该服刑。

总之，对有暴力行为史的精神病患者无论是在社会监护治疗、在医院强制监护治疗或是在监狱中服刑的环境中，对他们采取病情监护和预防复发、心理康复和行为矫正以及预防暴力的再次发生的相关措施都是十分必要的。

参 考 文 献

1　方明昭. 精神病患者与精神正常者凶杀行为的对比研究. 中华精神科杂志，1997，30(2)：110～112

2　高明暄主编. 中华法学大词典：刑法学卷. 北京：中国检察出版社，1996. 15～17，127～190

3　高诚忠，高至胜. 刑事案件 1 009 例精神医学司法鉴定分析. 临床精神医学杂志，1999，9(6)：350～351

4　韩臣柏，王菊芬，翟书涛，等. 精神分裂症患者凶杀行为的犯罪学特征对照研究. 中华精神科杂志，

1997,30(1):25~27
5 贾宜诚主编.实用司法精神病学.安徽:安徽人民出版社,1988
6 姜佐宁主编.现代精神病学.北京:科学出版社,1999.785~799
7 亢明,贾宜诚.对司法精神鉴定人资格的审查和管理.临床精神医学杂志,1999,9(3):184~185
8 刘协和主编.法医精神病学.北京:人民卫生出版社,1997
9 李从培主编.司法精神病学.北京:人民卫生出版社,1992
10 刘白驹著.精神障碍与犯罪(上、下).北京:社会科学文献出版社,2000
11 马世民主编.精神疾病的司法鉴定.上海:上海医科大学出版社,1998
12 沈祥安.165 例攻击行为精神病的脑电图分析.中国神经精神疾病杂志,1992,3:170~171
13 田祖恩,于庆波,陈学诗.司法精神鉴定改革浅议.临床精神医学杂志,1997,7(5):311~312
14 王小平,杨德森,李凌江,等.精神分裂症患者攻击行为的预测.中华精神科杂志,1997,30(1):20~24
15 王小平,杨德森,李凌江,等.攻击性精神分裂症患者智力结构对照研究.临床精神医学杂志,1997,7(3):134~136
16 谢斌,王士清,殷美莉,等.精神分裂症患者暴力行为:司法鉴定资料的对照研究.上海精神医学,1999,11(3):135~137
17 郑瞻培编著.司法精神医学基础.上海:上海医科大学出版社,1997
18 张少平,周天,徐琴芳,等.31 例精神病患者暴力行为分析及随访.中国神经精神疾病杂志,1997,23(5):197~298
19 张素馨,郑培兵,孔祥荣,等.青少年暴力犯罪的心理社会因素综合分析.中国行为医学科学,1995,4(1):25~27
20 Brennan PA, Mednick SA. Genetic perspectives on crime. Acta Pschiatr Scand, 1993, suppl 370:19~26
21 Brunner HG, Nelen M, Breakefiled XO, *et al*. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for Monoamine Oxidase A. Science, 1993, 262:578~580
22 Coccaro EF, Bergeman CS, Kavoussi RJ, *et al*. Heritability of aggression and irritability: a twin study of the Buss-Durkee Aggression Scale in adult male subjects. Biol Psychiatry, 1997, 41:273~284
23 Cheung P, Schweitzer I, Crowley K, *et al*. Aggressive behaviour in schizophrenia: role of state versus trait factors. Psychiatry Research, 1997, 72:41~50
24 Cheung P, Schweitzer. Correlates of aggressive behaviour in schizophrenia: an overview. Austrilian and New Zealand Journal of Psychiatry, 1998, 32:400~409
25 Coccarro EF, Kavoussi RJ, Scheline YI, *et al*. Impulsive aggression in personality disorder correlates with Tritiated Paroxetine binding in the platelet. Arch Gen Psychiatry, 1996, 53:531~536
26 Cadoret RJ, Yates WR, Troughton E, *et al*. Genetic-environmental interaction in the genesis of aggressivity and conduct disorders. Arch Gen Psychiatry, 1995, 52:916~924
27 Cases O, Seif I, Grimsby J, *et al*. Aggressive behavior and altered amounts of brain Serotonin and Norepinephrine in mice lacking MAOA. Science, 1995, 268:1 763~1 766
28 Davidson RJ, Putnam KM, Larson CL. Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation—a possible prelude to violence. Science, 2000, 289:591~594
29 Eronen M, Hakola P, Tihonen J. Mental disorders and homicidal behavior in Finnish. Arch Gen Psychiatry, 1996, 53:497~501
30 Hodgins S, Mednick SA, Brennan PA, *et al*. Mental disorder and crime evidence: from a Danish birth cohort. Arch Gen Psychiatry, 1996, 53:489~496

31 Hallikainen T, Saito T, Lachman HM, *et al*. Association between low activity serotonin transporter genotype and early onset alcoholism with habitual impulsive violent behavior. Mol Psychiatry, 1999, 4(4): 385 ~ 388

32 Higley JD, Mehlman PT, Poland RE, *et al*. CSF testosterone and 5 – HIAA correlate with different types of aggressive behaviors. Biol Psychiatry, 1996, 40: 1 067 ~ 1 082

33 Kho K, Sensky T, Mortimer A, *et al*. Prospective study into factors associated with aggressive incidents in psychiatric acute admission wards. British Journal of Psychiatry, 1998, 72: 38 ~ 43

34 Kay SR, Wolkenfeld F, Murill LM. Profiles of aggression among psychiatric patients: I Nature and prevalence. The Journal of Nervous and Mental Disease, 1988, 176(9): 539 ~ 546

35 Kay SR, Wolkenfeld F, Murill LM. Profiles of aggression among psychiatric patients: II Covariates and Predictors. The Journal of Nervous and Mental Disease, 1988, 176(9): 547 ~ 557

36 Kavoussi RJ, Liu J, Coccaro EF. An open trial of Sertraline in personality disordered patients with impulsive aggression. J Clin Psychiatry, 1994, 55: 137 ~ 141

37 Lyons MJ, True WR, Eisen SA, *et al*. Differential heritability of adult and juvenile antisocial traits. Arch Gen Psychiatry, 1995, 52: 906 ~ 915

38 Modestin J, Ammann R. Mental disorder and criminal behaviour. British Journal of Psychiatry, 1995, 166: 667 ~ 675

39 Petty F, Davis LL, Kabel D, *et al*. Serotonin disfunction disorders: A behavioural neurochemistry perspective. J Clin Psychiatry, 1996, 57(suppl 8): 11 ~ 16

40 Raine A, Brennan P, Mednick SA. Interaction between birth complications and early maternal rejection in predisposing individuals to adult violence: specificity to serious, early onset violence. Am J Pshiatry, 1997, 154: 1 265 ~ 1 271

41 Raine A, Brennan P, Mednick B, *et al*. High rates of violence, crime, academic problems, and behavioral problems in males with both early neuromotor deficits and unstable family environments. Arch Gen Psychiatry, 1996, 53: 544 ~ 549

42 Davidson RJ, Putnam KM, Larson CL. Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation – a possible prelude to violence. Science, 2000, 289: 591 ~ 594

43 Swanson MCJ, Bland RC, Newman SC. Antisocial personality disorders. Acta Psychiatrica Scandinavica, 1994, suppl 376: 63 ~ 70

44 Strous RD, Bark N, Parsia SS, *et al*. Analysis of functional catechol – O – methyltransferase gene polymorphism in schizophrenia: evidence for association with aggressive and antisocial bahavior. Psychiatry Research, 1997, 69: 71 ~ 77

45 Virkkunen M, Kallio E, Rawlings R, *et al*. Personality profiles and state aggressiveness in Finnish alcoholic, violent offender, fire setters, and healthy volunteers. Arch Gen Psychiatry, 1994, 51: 28 ~ 33

46 Volavka J, Laska E, Baker S, *et al*. History of violent behaviour and schizophrenia in different cultures, analysis based on the WHO study on determinants of outcome of severe mental disorders. British Journal of Psychiatry, 1997, 171: 9 ~ 14

47 Volavka J, Martell D, Convit A. Psychobiology of the violent offender. Journal of Forensic Sciences, 1992, 37(1): 237 ~ 251

48 Vartiainen H, Tiihonen J, Putkonen A, *et al*. Citalopram, a selective serotonin reuptake inhabitor, in the treatment of aggression in schizophrenia. Acta Psychiatrica Scandinavica, 1995, 91: 348 ~ 351

第二十三章 法医人类学活体的年龄推断

■ 陆惠玲

第一节 概述

在法医学鉴定中，活体年龄鉴定是个人识别的一项重要内容。在侦破案件、司法审判实践中，经常遇到青少年罪犯是否达到法定承担刑事责任的年龄问题，也会遇到遭性侵犯的女性是否已满14岁的问题。《中华人民共和国刑法(1997)》第十七条规定："已满十六周岁的人犯罪，应当负刑事责任。已满十四周岁不满十六周岁的人，犯故意杀人、故意伤害致人重伤或者死亡、强奸、抢劫、贩卖毒品、放火、爆炸、投毒罪的，应当负刑事责任。已满十四周岁不满十八周岁的人犯罪，应当从轻或者减轻处罚。"第二百三十六条规定："奸淫不满十四周岁的幼女的，以强奸论，从重处罚。"随着社会主义法制的健全，当犯罪嫌疑人自报年龄属这段年龄组时，年龄的确定对执行法律公平、公正显得十分重要。而一些犯罪分子也会利用种种手段，说假话，作假证明，缩小自己的年龄，企图减轻或逃脱罪责；再加上某些犯罪分子报假地址，一些农村或山区，户籍管理不完善，靠调查往往难以确定其真实年龄，甚至调查结果为"查无此人"。此时应用法医学理论和现代技术，科学地作出年龄鉴定，就显得十分重要。

从发育、生理学的角度来划分，人的一生一般分为以下几期：①未成年期：又可分为童年期：6，7～11，12岁；青春期：11，12～18，20岁；青年期：18，20～22，23岁；②成年期：男23～60岁，女22～55岁；③老年期：男60岁以上，女55岁以上。不同年龄期推断年龄的方法，所依靠的指标各有侧重。

活体的年龄鉴定主要根据以下几个方面。

1. 根据个体体格和性征的发育情况：包括身高、体重、第二性征的发育等。适用于推断未成年期人的年龄。

2. 根据骨龄：包括继发骨化中心的出现及干骺愈合。适用于推断未成年期人的年龄。

3. 根据牙齿的变化：包括乳、恒牙的萌出与交替、牙齿的磨耗度等。适用于推断各期人的年龄。

目前，在法医检案中，活体年龄鉴定主要集中在要求鉴定犯罪嫌疑人在作案时，是否已达应负刑事责任的年龄，即是否年满14岁、16岁或18岁。鉴定14～20岁年龄段个体的年龄，主要根据骨龄，其次根据牙齿变化，体格和性征的发育可供参考。

个体发育的年龄变化与营养、遗传、种族、健康状况和发育程度有关，也与生活习惯、劳动状况有关。营养和健康状况极佳的人，其骨骼发育远比从小营养不足或患有慢性消耗性疾病的人为快。此外，地理位置亦对骨骼发育有影响，一般认为，热带地区的人比温带地区的人发育成熟得早，温带地区的人比寒带地区的人发育成熟得早，大约各相差1年左右。另外，个体的骨骼发育与性别有关，因女性性腺发育较男性早，故一般女性骨骼的年龄变化略早于男性：5～10岁间相差1年，10～15岁间相差2年，15～20岁间相差1年。由于以上诸多因素的影响，同一年龄不同个体的骨骼会出现不同的年龄特征；而相似的骨骼发育程度，又可分属于不同年龄个体。因此在实际工作中，应尽可能采用多种鉴定方法，全面认真地观察，综合评定，才能得出比较准确的结论。

一般认为，对有经验者来说，20岁以前年龄鉴定的误差在2年左右（即与实际年龄相差±2岁），20岁以后主要根据牙齿磨耗判断年龄，误差小于5岁。据作者多年实践工作的体会，在本章以下所述的各项指标中，14岁以下年龄鉴定以乳、恒牙的萌出时间较准确；14～18岁年龄段主要根据四肢各大关节以及掌、指关节干骺愈合情况；18～21岁年龄段主要根据坐骨结节及髂嵴骨骺的愈合情况。在实践中拍摄肩、肘、腕（包括双手）、膝、踝关节及骨盆X射线片，结合牙齿检验，可将大部分14～20岁的活体年龄鉴定误差控制在±0.5岁。

第二节　根据骨龄推断活体年龄

人体骨骼发育过程中，继发骨化中心的出现、完全骨化及与干骺愈合是依一定时间顺序进行的，根据这种规律而推断的年龄，称为骨龄。骨龄判断主要依靠X射线技术。通过某一部位骨骼继发骨化中心的出现，骨的发育情况，干骺愈合情况与标准作比较，从而确定个体的年龄。

根据骨龄推断婴儿至青春期者的年龄较为可靠，误差一般小于2岁。但宜以多处骨化中心及干骺愈合程度为推断的依据。其中随年龄增加，变化规律性较好的部位有：锁骨的胸骨端、髂嵴、坐骨大结节、股骨头、股骨下端、肱骨头、肱骨内上髁、桡骨下端和尺骨鹰嘴等。因此，一般需要拍摄双肩、双肘、双腕（包括双手）、骨盆（包括双髋关节）、双膝、双踝关节等部位X射线正位片，以供骨龄鉴定用。

根据在白人、黑人和黄种人间进行的研究，发现继发骨化中心的出现与干骺愈合的顺序，在各种种族间差别并不大，有关标准是关系整个人类的，并不是关系某一个种族的。如各种族间骨龄变化有所不同，学者们认为主要是因饮食、卫生状况等外因所致，而不是由种族所决定的本质差异。

一、根据继发骨化中心推断活体年龄

与推断年龄有关的骨化中心（ossification center）又称骨化点、骨化核，主要是指出生前、后在长骨两端软骨内新出现的继发骨化中心（又称次级骨化中心）。在不同的长骨及在同一长骨两端出现骨化中心的年龄不同，但都属于软骨内成骨，即由原始的骨小梁连接成网状构造，即原始的骨松质。

继发骨化中心的出现，在男女性有所不同，女性的出现较男性稍早，详见表23－1。

二、根据干骺愈合推断活体年龄

以长骨为例，人体出生时骨干大多已骨化，但骺部仍为软骨。在出生后的头几年内，骺部出现继发骨化中心（简称骨化中心），随年龄增加，骨化中心向四周扩展，不断生成骨小梁，使骺端软骨大部分被骨松质所取代，在靠近关节面留一层终生存在的关节软骨。在骨骺与骨干交界处，也保留一层软骨，称为骺板（epiphyseal plate），以供长骨继续生长。

表 23－1　男女性继发骨化中心出现的时间(单位:岁)

骨骼部位	骨化中心出现	骨骼部位	骨化中心出现
锁骨体	17～20	肱骨	
胸骨端	(15～17)	头	出生~3 月
肩胛骨体			(出生~2 月)
喙突	1		
下角	11～18	大结节	7～9 月
			(5～7 月)
关节盂	11～18	小结节	2～4 月
肩峰端	11～18		(1～3 月)
脊柱缘	11～18	肱骨小头	3～5 月
髋骨			(2～4 月)
髂耻隆突	12～19	内上髁	6～8
耳状面	12～19		(4～6)
髋臼	12～19	外上髁	11～13
联合面	12～19		(9～11)
髂前下棘	12～19	滑车	9～11
髂嵴	12～19		(7～9)
坐骨结节	12～19	尺骨　鹰嘴	9～11
坐骨棘	12～19		(8～10)
耻骨结节	12～19	小头	6～8
股骨			(5～7)
股骨头	3～5 月		
	(2～4 月)	桡骨　上端(小头)	5～7
大转子	3～5		(4～6)
	(2～4)	下端	7～9
小转子	9～11		(6～8)
	(8～10)	头状骨	2～3 月
股骨下端	出生~5 月		(1～3 月)
	(出生~4 月)	钩骨	2～4 月
胫骨　上端	出生~2 月		(1～3 月)
	(出生~1 月)	三角骨	2～4
下端	4～6 月		(1～3 月)
	(4～6 月)	月骨	3～5
腓骨　上端	3～5		(3～5)
	(2～4)	舟骨	5～7

续表 23－1

骨骼部位	骨化中心出现	骨骼部位	骨化中心出现
下端	10月~2		(4~6)
	(8~10月)	大多角骨	5~7
跟骨 跟骨结节	6~12		(4~6)
	(5~11)	小多角骨	5~7
距骨	7~8月		(4~6)
骰骨	出生~1月	豌豆骨	8~10
	(出生~1月)		(6~8)
第一楔骨	9~11月	掌骨	
	(8~10月)	第一掌骨底	1~3
第二楔骨	9~11月		(11月~3)
	(8~10月)	其余掌骨小头	1~3
第三楔骨	9~11月		(11月~3)
	(8~10月)	指骨底	1~3
舟骨	9~11月		
趾骨小头	2~6		(11月~3)
	(1~5)		
趾骨底	2~6		
	(1~5)		

(引自陈世贤《法医人类学》P48)

注:未加月字者为岁数;未加括号数字为男性继发骨化中心出现年龄;括号内数字为女性继发骨化中心出现年龄

干骺愈合(stem－epiphyseal union)又称干骺闭合(stem－epiphyseal closure),是指青春期前、后,软骨细胞失去增殖能力,完全被骨组织所代替,骨骺与骨干结合在一起。干骺愈合后,长骨停止加长。大多数骨的干骺端在25岁前完成愈合而进入成年期。在成年人长骨的纵剖面上,常可见一条骨化的骺软骨板遗迹,称为骨骺线(epiphyseal line)。骨骺线在老年人因骨髓腔的扩大而破坏消失。

骺软骨板的愈合过程可分为4个阶段:①未愈合:骨骺与骨干之间有明显的间隙,有软骨板相隔。骨面有波纹状凹凸花纹,其边缘呈锯齿状;②开始愈合:骨骺与骨干之间裂隙变细小,锯齿状边缘逐渐消失;③接近愈合:骨骺与骨干基本愈合,仅在骺、干之间留下一条连续或不连续的细小分界线,此线在不同骨骼上各有变化;④完全愈合:骨骺线成为骨性痕迹。但需注意与胫骨近端和股骨远端的骨膜附着线相区别。

Todd(1930年)将干骺愈合在X射线照片上的表现分为9个发展阶段:①骨骺与骨干分别单独存在,彼此无密切关系,其结合面界限不清,由骨松质构成;②结合面形成厚而模糊的带;③模糊的带变清楚,出现由致密组织构成的清楚的界限面,表现为清楚的白线;④结合面呈波浪状;⑤结合面出现对等线,彼此平行;⑥结合面间的间隔变窄;⑦白色的细波浪状线崩解,愈合开始;⑧愈合初步完成;⑨完全愈合,由骨干至骨骺有骨小梁相连续。

1. 利用X射线照片观察骨骺愈合程度推断年龄,国内外已有诸多报道,根据作者实践体会,结合天津医科大学附属医院放射科和医学摄影室及山东刘惠芳等人的研究,将中国人各大关节干骺愈合的年

龄列于表 23－2。

表 23－2　中国人干骺愈合时间(单位:岁)

部　位	愈合时间	
	男性	女性
锁骨肩峰端	17～20	16～17
肱骨		
头		
上端　大结节	17～20	16～17
小结节		
小头		
下端　内上髁	16～18	14～16
滑车		
外上髁		
尺骨		
上端(鹰嘴)	15～17	13～15
下端	16～18	15～17
桡骨		
上端(小头)	15～17	13～15
下端	16～18	15～17
掌骨		
第一掌骨底	14～16	13～15
其余掌骨小头	14～16	13～15
指骨底	14～16	13～15
股骨		
头		
上端　大转子	17～19	14～16
小转子		
下端	17～20	15～18
胫骨		
上端	17～19	15～18
下端	16～18	15～17
腓骨		
上端	17～19	15～18
下端	16～18	15～17
跟骨结节	16～18	14～16
蹠骨		
第一蹠骨底	17～19	16～18
其余蹠骨小头	17～19	16～18
趾骨底	17～19	16～18
髂骨嵴及坐骨结节	18～22	18～22

2. 邓浩等(1996 年)对 331 例海南汉族男性青少年(12～20 岁) 左侧肩、肘、腕、髋、膝和踝六大关节的干骺愈合进行观察研究,得出了骨骺开始愈合、大部分愈合和完全愈合的年龄,见表 23－3。

表 23－3　海南汉族男性青少年干骺愈合时间(单位:岁)

部　位	开始愈合	大部愈合	完全愈合
肩关节			
肱骨近中端	13 岁	15～17 岁	>20 岁
锁骨肩峰端	14 岁	18 岁	>20 岁
肩胛骨喙突	15 岁	17 岁	>20 岁
肩胛骨肩峰	13～15 岁	16～17 岁	>20 岁
肘关节			
肱骨内上髁	14～15 岁	16～17 岁	18～20 岁
肱骨外上髁	13～14 岁	15～16 岁	18～20 岁
肱骨滑车	13 岁	14～15 岁	16～17 岁
桡骨小头	14 岁	15～16 岁	17～18 岁
尺骨鹰嘴	14 岁	15～16 岁	17～18 岁
腕关节			
桡骨远中端	15 岁	17 岁	>20 岁
尺骨远中端	15 岁	16 岁	18～20 岁
尺骨茎突	15 岁(开始出现)	17 岁(完全形成)	
髋关节			
髂嵴	16 岁	18 岁(18～19 岁)	>20 岁
坐骨结节	16～17 岁	18～19 岁	>20 岁
髋臼	14 岁(13～14 岁)	15 岁	17 岁
股骨头	14 岁	15～16 岁	17 岁
大粗隆	14 岁	15～16 岁	17 岁
小粗隆	14 岁	15 岁	17 岁
膝关节			
股骨远中端	14 岁	16 岁	17～18 岁
胫骨近中端	14 岁	16～17 岁	18～20 岁
腓骨近中端	14～15 岁	16～17 岁	18～19 岁
踝关节			
胫骨远中端	14 岁	16～17 岁	18～20 岁
腓骨远中端	14 岁	16 岁	18～19 岁
跟结节	14 岁	15～16 岁	17～18 岁

(引自邓浩《刑事技术》1996,6:25)

干骺愈合的个体差异较大，波动范围可有一年至数年。因此，有必要了解某一种干骺愈合程度在哪个年龄常见。Mckern 与 Stewart(1957 年)将干骺愈合分为 5 级：0 级，没有愈合；1 级，1/4 干骺愈合；2 级，1/2 干骺愈合；3 级，3/4 干骺愈合；4 级，骨骺完全愈合。他们对 17～50 岁的骨骼进行了研究，介绍了下述各种干骺愈合的年龄分布，见表 23－4。

表 23－4　四肢长骨干骺愈合的年龄分布(%)

年龄(岁)	例数	肱骨上端愈合分布					桡骨下端愈合分布				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
17～18	55	14	5	25	35	21	22	3	14	32	29
19	52	5	2	10	58	25	7		5	48	40
20	45	2	2	4	40	52	4		2	24	70
21	37			2	27	71				19	81
22	24				12	88				12	88
23	26				4	96					100
24＋	136					100					
		尺骨下端愈合分布					股骨下端愈合分布				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
17～18	55	29	1	11	24	35	16	2	3	18	61
19	52	7		5	32	56	4		1	9	86
20	45	4	2		24	70			2	9	89
21	37				10	90				8	92
22	24				8	92					100
23	26					100					
24＋	136										
		胫骨上端愈合分布					腓骨上端愈合分布				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
17～18	55	2	2	7	23	66	14		3	12	71
19	52	1		1	17	81	4		6	4	12
20	45				13	87			2		98
21	37				5	95				5	95
22	24				4	96					100
23	26					100					
24＋	136										

(引自陈世贤《法医人类学》P54)

三、X 射线照片在推断活体年龄时的应用

在 Roentgen 发现 X 射线的第二年(1896 年)，X 射线摄影就被用于观察骨化中心及干骺愈合过程的研究。用 X 射线摄影观察手部、足部、肘部、骨盆部及其他骨骨化中心的发生发展与愈合情况测定骨龄，能快捷、准确判定儿童及青少年的年龄，在判断青少年犯罪嫌疑人的确切年龄时有十分重要的作用。

(一)根据肘部 X 射线照片推断活体年龄

与手腕部相比，肘关节部位的继发骨化中心出现晚，干骺愈合却较早，所以其骨发育持续时间较短。此外，肘关节骨化活跃的过程大多集中在手腕部骨化的相对缓慢阶段，即儿童的学龄期。因此有学者认为，对这一期间的年龄判断，用肘部 X 射线摄影可能比手腕部更为准确。

拍摄肘部正位片和侧位片各1张。正位片重点观察桡骨小头、肱骨滑车、肱骨小头、肱骨外上髁和肱骨内上髁的骨化中心。侧位片重点观察尺骨鹰嘴的发育情况。参照各年龄肘部的主要X射线征象及标准图谱(图23-1),找出发育水平相近者,相应标准图谱代表的年龄即为骨龄。当正、侧位片骨龄不一致时,取两者的平均值为骨龄。该方法适用于10~15岁男童、8~13岁女童的肘部骨骼发育年龄的判定。

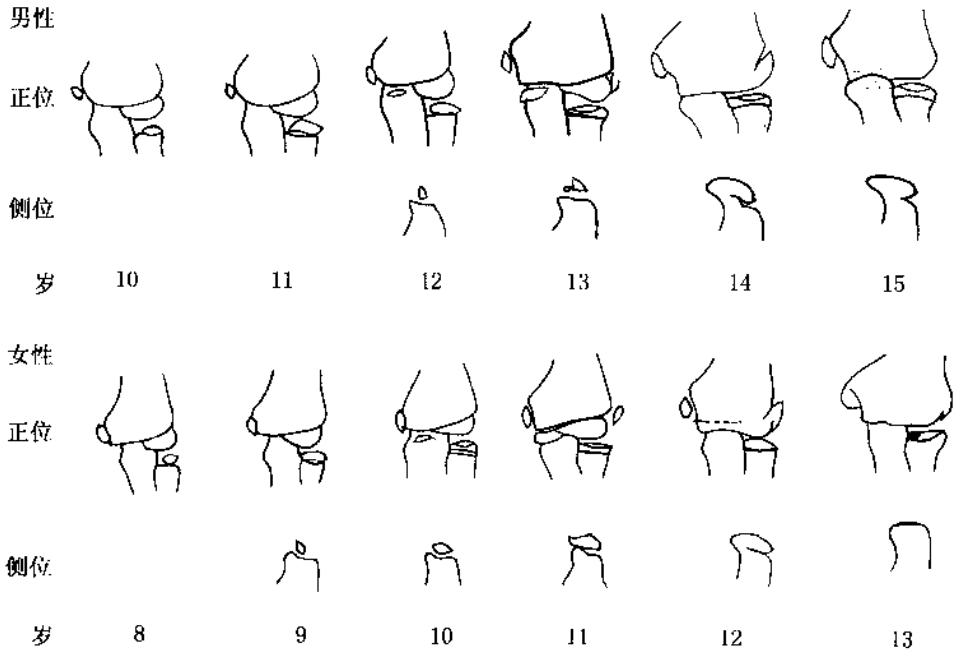


图23-1 肘部骨龄标准

(引自贾静涛《法医人类学》P309)

1. 男性儿童各年龄肘部主要X射线征象

(1)10岁 可见肱骨小头、肱骨内上髁和桡骨小头3个骨化中心。

(2)11岁 桡骨小头骨化中心的长径达到干骺端宽度的2/3。

(3)12岁 肱骨滑车和尺骨鹰嘴出现骨化中心。

(4)13岁 肱骨外上髁出现骨化中心,尺骨鹰嘴出现2个骨化中心或1个骨化中心的长径超过干骺端斜面的1/2(参照图23-1女性10岁表现)。

(5)14岁 肱骨滑车完全愈合,外上髁和肱骨小头共同与干骺端部分愈合,鹰嘴部分愈合,愈合部分不超过干骺端宽度的1/2。

(6)15岁 肱骨外上髁等干骺端完全愈合,鹰嘴愈合部分超过干骺端宽度的1/2。

2. 女性儿童各年龄肘部主要X射线征象

(1)8岁 可见肱骨小头、肱骨内上髁和桡骨小头3个骨化中心。

(2)9岁 桡骨小头骨化中心的长径达到干骺端宽度的2/3,鹰嘴骨化中心的长径不超过干骺端斜面的1/2。

(3)10岁 肱骨滑车出现骨化中心,尺骨鹰嘴骨化中心的长径超过干骺端斜面的1/2,或出现2个骨化中心(参照图23-1男性13岁表现)。

(4)11岁 肱骨外上髁出现骨化中心,鹰嘴骨化中心的长径超过干骺端的宽度。

(5)12岁 肱骨滑车、外上髁和尺骨鹰嘴等干骺端部分愈合。

(6)13 岁　除肱骨内上髁外,各干骺端完全愈合。

(二)根据骨盆部 X 射线照片推断活体年龄

一般在手、足、肘等各关节骨骺发育成熟以后很长时间,骨盆部骨骺仍在继续发育。因此,骨盆部 X 射线摄影是推断活体年龄的有价值的部位。通常根据髂嵴与坐骨结节骨骺的发育状态推断 13～20 岁个体的年龄。

1. 髂嵴骨骺的发育分期　见图 23－2。

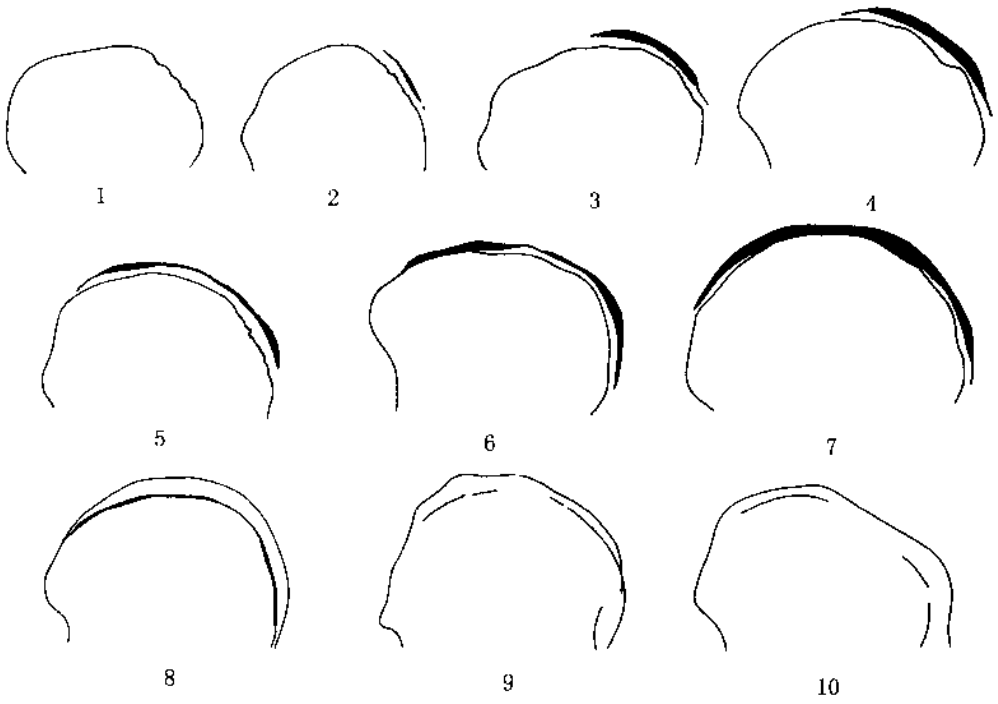


图 23－2　髂嵴骨骺的发育分期

(引自贾静涛《法医人类学》P311)

1. 髂嵴骨化中心尚未出现,髂嵴上缘呈锯齿状
2. 在呈锯齿状的髂嵴上缘中央稍外侧(有时在中央部或稍内侧),出现 1 个或数个骨化中心
3. 骨化中心的长径增加,全长约为髂嵴上缘长的 1/2;髂嵴上缘与骨化中心互相对应的边缘均呈锯齿状
4. 骨化中心的长径继续增加,全长约为髂嵴上缘长的 2/3,仍以锯齿状边缘互相对应
5. 骨化中心全长覆盖髂嵴上缘,仍以锯齿状边缘互相对应
6. 与 5. 的形态基本相似,锯齿状缘模糊,骨化中心的厚度增加
7. 骨骺中部开始与髂骨体相愈合,但在骨骺的两端与髂骨体间仍留有间隙
8. 骨骺与髂嵴上缘开始全面愈合,愈合的骺线呈线状
9. 骨骺与髂嵴上缘进一步愈合,骺线呈断续的线状
10. 骨骺与髂骨体的愈合完成,骺线残痕消失,成为成熟的髂骨

2. 坐骨结节骨骺的发育分期　见图 23－3。

3. 骨骺发育指标与年龄的关系　见表 23－5。

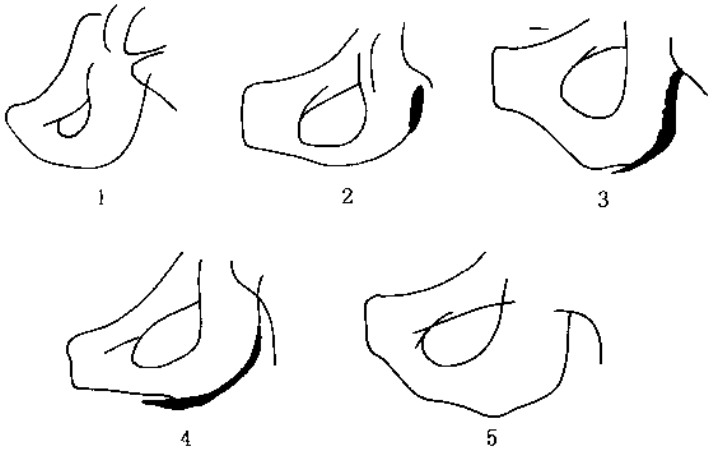


图 23－3　坐骨结节骨骺的发育分期

（引自贾静涛《法医人类学》P312）

1. 坐骨结节骨化中心尚未出现
2. 坐骨体外侧缘变模糊，有骨化中心出现
3. 骨化中心向下方增长，达坐骨结节
4. 骨化中心长度进一步增加，覆盖整个坐骨结节，骨骺开始与坐骨体相愈合
5. 骨骺与坐骨体完全愈合，形成坐骨结节的固有形态

表 23－5　根据髂嵴与坐骨结节骨骺发育判断年龄

年龄	髂嵴（级别）		坐骨结节（级别）	
	男	女	男	女
13	(1)	(3)(4)	(1)	(2)，偶(3)
14	(2)，偶(3)	(5)	(2)，偶(1)	(3)
15	(3)(4)，偶(5)	(6)	(2)，偶(3)	(4)
16	(6)	(7)	(4)，偶(3)	(4)
17	(7)，偶(6)	(7)	(4)	(4)
18	(8)，偶(9)	(8)	(4)	(4)
19	(9)	(8)(9)	(4)	(4)
20	(9)	(9)	(4)，偶(5)	(4)，偶(5)

（引自贾静涛《法医人类学》P311）

第三节　根据牙齿推断活体年龄

牙齿的发育、萌出、磨耗与年龄相关早已公认。我国宋代已有用牙齿推断年龄的鉴定案例。近几十年来对牙齿磨耗与年龄的关系进行了系统的研究，随着电子计算机技术在医学领域中的广泛应用，极大地提高了鉴定牙齿推定年龄的准确性。

由于牙的发育、成熟及磨耗具有明显的阶段性，因此推断不同阶段的年龄需选用不同的指标。出生后至 14 岁的年龄推断主要依据乳、恒牙的萌出与交替，14 岁以后主要依据牙齿的磨耗。

一、根据乳、恒牙的萌出与替换推断活体年龄

由于各个牙齿都有各自的发育规律，每一过程都有相对稳定的时间范围，所以各个牙齿的不均衡发育和牙齿发育的长期性为14岁以前个体的年龄鉴定提供了条件。虽然乳、恒牙的萌出与交替受遗传因素、营养状况、疾病等影响，有群体差异及个体差异，但14岁前牙齿发育相对比较稳定，对于判定儿童及少年的年龄比较准确。

一般而言，下颌牙先于上颌同名牙萌出，女孩牙齿萌出的平均年龄早于男孩，同一个体左右两侧同名牙齿萌出时间基本相同。婴儿6个月开始乳牙萌出，约2岁半乳牙全部萌出，6岁以前为单纯的乳牙列。6岁时萌出第1恒磨牙后，乳牙逐渐被恒牙所替换，此时为乳、恒牙混合牙列，直到12～14岁第2恒磨牙萌出转为全恒牙列。所以颌骨为乳、恒牙混合牙列，提示年龄小于14岁。

（一）乳牙萌出与脱落时间

乳牙萌出与脱落时间见表23－6。

表23－6 乳牙萌出与脱落时间表

		乳中切牙	乳侧切牙	乳尖牙	第一乳磨牙	第二乳磨牙
上颌	萌出(月)	7.5(6～9)	9(6.5～10)	18(16～20)	14(12～18)	24(20～30)
	脱落(岁)	7～8	8～10	11～12	10～11	10～12
下颌	萌出(月)	6(5～8)	7(6～9)	16(14～18)	12(10～14)	20(18～24)
	脱落(岁)	6～7	7～8	9～11	10～12	11～13

（二）恒牙萌出时间

恒牙萌出时间见表23－7。

表23－7 恒牙萌出时间表(岁)

	男性		女性		平均萌出时间
	上颌	下颌	上颌	下颌	
中切牙	6.5～8	6～7.5	6～9	5～8.5	7
侧切牙	7.5～10	6.5～8.5	7～10	5.5～9	8
尖牙	10～13	9.5～12	9.5～12	8.5～11.5	11
第1双尖牙	9～12	9.5～12	9～12	9～12	9
第2双尖牙	10～13	10～13	9.5～12.5	9.5～13	10
第1磨牙	6～7.5	6～7	5.5～7.5	5～7	7
第2磨牙	11.5～14	11～13.5	11～14	10.5～13	12～14
第3磨牙	17～40		17～40		25

第3磨牙萌出时间差异较大，最早可在14岁时萌出，多数在22～32岁时萌出，也有终生埋藏在颌骨内不萌出者。萌出率最高的年龄男性为26～28岁，女性为22～25岁。男性下颌第3磨牙的萌出率约为80%，上颌第3磨牙则约40%，女性萌出率较男性为小，30岁以后无此齿者男性约占15%，女性约

占30%，高1倍。牙齿检验时见有第3磨牙萌出，一般可推断年龄大于17岁，见有4颗第3磨牙萌出，一般可推断年龄大于25岁。

二、根据整颌牙的磨耗度推断活体年龄

磨耗是指牙齿在长期咀嚼食物过程中，切牙的切缘，尖牙的尖端、双尖牙及磨牙的咬合面及邻面接触区的牙釉质、牙本质的磨损。随着年龄的增长，牙齿的磨损程度也加大，根据磨损程度划分等级，以此可以判定年龄。

牙齿的磨损受食物组成、咬合习惯、性别、发育情况等多种因素影响，如多吃粗糙、坚硬食物者磨耗较重；牙釉质钙化不良或形成不良者，牙齿易磨耗；同一牙齿由于咬合力分布不均匀，经常咬合的部位磨耗重；同一口腔中萌出早的牙齿磨耗较重，第1磨牙比第2磨牙估计年龄约早3年。所以在根据磨耗度推断年龄时应充分注意这些与年龄无关因素对牙齿磨耗的影响，也不能用龋齿，经充填或修补牙齿的磨耗程度来判断年龄。

恒牙磨耗开始于15～20岁，20～40岁期间磨耗进展急剧，40～50岁期间进展缓慢，50岁以上牙齿磨耗又有较快进展。

由于咀嚼过程中，不同牙齿所起作用不同，承受的咬合力也不同，因此磨耗程度不同。一般而言，双尖牙的磨耗在全口牙中总是最小的，切牙尤其是中切牙磨耗程度约与第1磨牙相似或更大。用整颌牙的磨耗度判定年龄，充分利用每个牙所提供的与年龄有关的信息，考虑牙列的整体磨耗，能有效提高推定年龄的准确度。

宋宏伟、贾静涛（1986年）调查辽宁13～60岁以上880人，将牙的磨耗度分成0～6度，共7个等级，研究出每个牙磨耗等级的赋值，鉴定时将各个牙齿磨耗度赋值相加，再加上年龄表的年龄常数，所得的值为一颌牙估计年龄，取上、下颌牙估计年龄的平均值为推断的年龄。该研究解决了缺失牙磨耗度判断的方法，提高了年龄判断的准确性，现介绍如下。

1. 确定牙位并根据磨耗度判定标准判定磨耗度　由于各个牙的形态特点和功能不同，其分度的标准也不同，所以根据牙齿磨耗度判定年龄时，首先要求准确判定牙位。固定在颌骨上的牙，牙位很容易判定。离体牙根据各牙的特点判定牙位。

牙齿磨耗的分度是以牙釉质的点状、线状、带状、全面磨耗和牙本质的点状、线状、带状、全面露出为依据。各牙群的分度标准中0度均为无磨耗，6度均为磨耗达牙颈，1～5度的分度标准不同：切牙、磨牙1～2度按釉质变化分，3～5度按本质变化分；尖牙1度按釉质变化分，2～5度按本质变化分；双尖牙1～4度按釉质变化分，5度按本质变化分，具体见图23－4。

2. 补充缺失牙的磨耗度　根据牙齿磨耗度推断年龄时，龋齿、经充填及补缀的牙齿均视作为缺失牙。

经大量研究发现，同一口腔内每一个牙齿都与其他诸牙相关，相关程度因牙而异。用统计学方法制定出牙齿磨耗度相关矩阵表（表23－8），用相关系数（R）衡量相关程度大小，相关系数大，磨耗程度相近；相关系数小，磨耗程度可能有差别。确定缺失牙的牙位后，在相关矩阵表中找到与之相关系数最高的已知牙，用该牙的磨耗度作为缺失牙的磨耗度。

相关矩阵表使用方法：在相关矩阵表上方第2行牙位中找到缺失牙，然后在缺失牙这列中选出最高的相关系数，向左对到该相关系数所指的牙位，用该牙的磨耗度补充，若最相关牙缺失，依次找次相关牙补充；也可采用对称法补充缺失牙的磨耗度。

在补充缺失牙磨耗度时，请注意以下几点：①由于同颌同名牙相关程度最好，故应尽量用同颌同一牙群内的已知牙补充缺失牙的磨耗度；②在最相关牙缺失时，依次找次相关牙及再次相关牙，尽量用已知牙补充缺失牙；③一般来说，相邻同名牙近中牙磨耗大于远中牙；中切牙磨耗大于侧切牙，第1双尖牙

磨耗大于第2双尖牙，第1磨牙磨耗大于第2磨牙；故当近中牙磨耗为3度弱时，缺失远中牙磨耗度最好定为2度；④如果上、下颌牙磨耗度不一样，则一般下颌切牙、磨牙磨耗大于上颌切牙、磨牙，上颌双尖牙磨耗大于下颌双尖牙；⑤由于同颌左右两侧同名牙磨耗度相似，所以补充缺失牙磨耗度时，也可采用对称法，即用同颌对侧同名牙的磨耗度补充缺失牙的磨耗度。此法简单，结果与应用相关矩阵表的结果基本一致；⑥理论上，根据相关矩阵表，一个牙可补27个牙，但这样推断年龄误差太大，在一颌缺失牙较多时，可仅用有较多牙的一颌判定年龄。

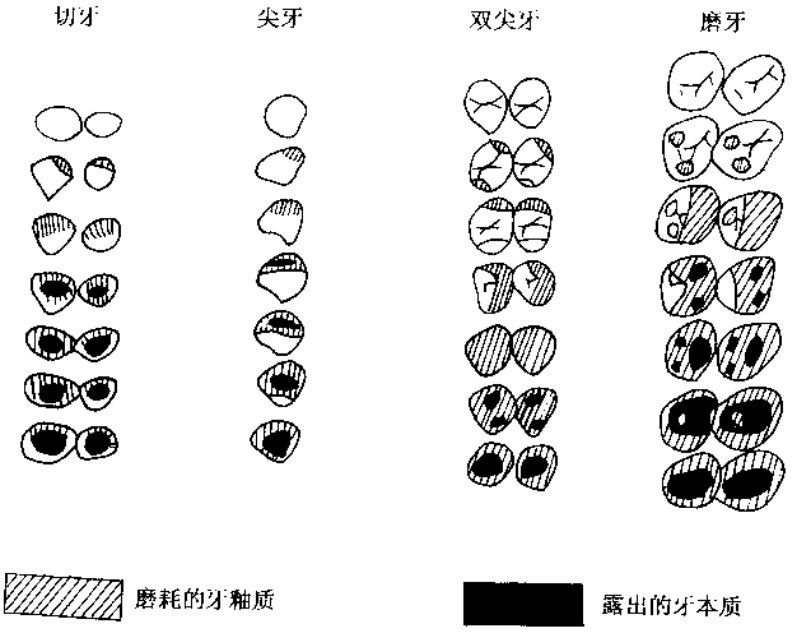


图23－4　七级牙磨耗度判定标准

切牙	尖牙	双尖牙	磨牙
0　无磨耗	无磨耗	无磨耗	无磨耗
1　釉质轻微磨耗	釉质呈点状磨耗	釉质稍有磨耗	尖端釉质点状磨耗
2　切缘磨平	本质线状露出	牙尖釉质呈平面状	双尖磨平
3　本质线状露出	磨耗达两侧角	两尖舌颊侧相连	本质点状外露
4　本质带状露出	本质呈梭形露出	两尖磨平	双牙尖本质融合
5　本质矩形露出	本质呈矩形露出	双尖消失，本质外露	3或4个牙尖本质融合
6　磨耗达牙颈	磨耗达牙颈	磨耗达牙颈	磨耗达牙颈

表23－8　牙齿磨耗度相关矩阵表

		上颌右侧							上颌左侧							下颌右侧							下颌左侧						
		7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
上颌右侧	7	1	.91	.87	.83	.73	.71	.72	.73	.70	.74	.77	.81	.87	.90	.88	.86	.83	.80	.74	.73	.74	.72	.70	.74	.77	.80	.86	.87
	6	.91	1	.86	.81	.71	.69	.71	.72	.69	.72	.75	.81	.89	.88	.87	.89	.82	.79	.75	.73	.74	.72	.70	.72	.75	.78	.86	.86
	5	.87	.86	1	.91	.77	.71	.72	.72	.71	.73	.82	.86	.85	.86	.85	.85	.87	.83	.75	.70	.72	.71	.70	.75	.79	.82	.84	.85
	4	.83	.81	.91	1	.82	.73	.73	.72	.73	.75	.84	.85	.82	.82	.82	.81	.85	.84	.77	.71	.72	.72	.71	.77	.80	.81	.81	.82
	3	.73	.71	.77	.82	1	.77	.72	.73	.73	.79	.78	.76	.73	.73	.73	.71	.74	.77	.81	.73	.73	.73	.73	.76	.74	.73	.72	.73
	2	.71	.69	.71	.73	.77	1	.80	.77	.81	.72	.72	.71	.70	.72	.71	.68	.69	.71	.73	.74	.74	.73	.73	.72	.70	.68	.70	.70
	1	.72	.71	.72	.73	.72	.80	1	.91	.79	.73	.72	.72	.73	.74	.73	.72	.73	.72	.74	.78	.79	.77	.76	.73	.71	.69	.74	.74

续表 23－8

		上颌右侧							上颌左侧							下颌右侧							下颌左侧						
		7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
上颌左侧	1	.73	.72	.72	.72	.73	.77	.91	1	.80	.74	.73	.71	.74	.75	.74	.74	.74	.73	.74	.78	.79	.80	.77	.74	.71	.71	.74	.75
	2	.70	.69	.71	.73	.73	.81	.79	.80	1	.77	.73	.72	.71	.72	.71	.68	.71	.72	.73	.74	.75	.75	.75	.75	.73	.70	.71	.72
	3	.74	.72	.73	.75	.79	.72	.73	.74	.77	1	.80	.75	.73	.74	.72	.71	.73	.75	.78	.73	.71	.73	.76	.81	.76	.73	.73	.74
	4	.77	.75	.82	.84	.78	.72	.72	.73	.73	.80	1	.87	.78	.79	.77	.76	.80	.80	.76	.72	.72	.74	.74	.78	.82	.79	.78	.78
	5	.81	.81	.86	.85	.76	.71	.72	.71	.72	.75	.87	1	.82	.83	.82	.81	.81	.80	.74	.71	.71	.72	.71	.75	.79	.82	.82	.82
	6	.87	.89	.85	.82	.73	.70	.73	.74	.71	.73	.78	.82	1	.91	.87	.87	.82	.79	.73	.73	.73	.73	.72	.74	.76	.79	.88	.87
	7	.90	.88	.86	.82	.73	.72	.74	.75	.72	.74	.79	.83	.91	1	.90	.87	.84	.81	.75	.75	.75	.74	.73	.75	.78	.82	.88	.90
下颌右侧	7	.88	.87	.85	.82	.73	.71	.73	.74	.71	.72	.77	.82	.87	.90	1	.90	.84	.81	.74	.73	.75	.74	.71	.73	.78	.81	.87	.90
	6	.86	.89	.85	.81	.71	.68	.72	.74	.68	.71	.76	.81	.87	.87	.90	1	.85	.80	.74	.73	.75	.74	.71	.74	.77	.79	.88	.87
	5	.83	.82	.87	.85	.74	.69	.73	.74	.71	.73	.80	.81	.82	.84	.84	.85	1	.88	.77	.74	.74	.74	.72	.77	.82	.82	.83	.84
	4	.80	.79	.83	.84	.77	.71	.72	.73	.72	.75	.80	.80	.79	.81	.81	.80	.88	1	.79	.73	.72	.72	.73	.78	.83	.82	.79	.81
	3	.74	.75	.75	.77	.81	.73	.74	.74	.73	.78	.76	.74	.73	.75	.74	.74	.77	.79	1	.82	.79	.78	.78	.81	.78	.76	.74	.73
	2	.73	.73	.70	.71	.73	.74	.78	.78	.74	.73	.72	.71	.73	.75	.73	.73	.74	.73	.82	1	.88	.85	.85	.78	.75	.73	.74	.73
	1	.74	.74	.72	.72	.73	.74	.79	.79	.75	.71	.72	.71	.73	.75	.75	.75	.74	.72	.79	.88	1	.93	.84	.76	.75	.74	.76	.75
下颌左侧	1	.72	.72	.71	.72	.73	.73	.77	.80	.75	.73	.74	.72	.73	.74	.74	.74	.74	.72	.78	.85	.93	1	.86	.77	.75	.72	.75	.75
	2	.70	.70	.70	.71	.73	.73	.76	.77	.75	.76	.74	.71	.71	.73	.71	.71	.72	.73	.78	.85	.84	.86	1	.82	.77	.73	.73	.73
	3	.74	.72	.75	.77	.76	.72	.73	.74	.75	.81	.78	.75	.74	.75	.73	.74	.77	.78	.81	.78	.76	.77	.82	1	.81	.76	.76	.75
	4	.77	.75	.79	.80	.74	.70	.71	.71	.72	.76	.82	.79	.76	.78	.78	.77	.82	.83	.79	.75	.75	.75	.77	.81	1	.86	.78	.79
	5	.80	.78	.82	.81	.73	.68	.69	.71	.70	.73	.79	.82	.79	.82	.81	.79	.82	.82	.76	.73	.74	.72	.73	.76	.86	1	.81	.81
	6	.86	.86	.84	.81	.72	.70	.74	.74	.71	.73	.74	.82	.88	.88	.87	.88	.83	.79	.74	.74	.76	.75	.73	.76	.78	.81	1	.91
	7	.87	.86	.85	.82	.73	.70	.74	.75	.72	.74	.78	.82	.87	.90	.90	.87	.84	.81	.73	.73	.75	.75	.73	.75	.79	.81	.91	1

（引自贾静涛《法医人类学》P449）

3. 用年龄表推断年龄　用多元逐步回归法考虑影响磨耗度的各种因素，如性别、地区、颌别等得出各种条件下推断年龄方程。为应用方便，将方程简化为推断年龄表。根据已知条件选用合适的年龄表推断年龄。

活体年龄鉴定所选用的牙齿磨耗度推断年龄表可分为 2 类：A 类表（表 23－9～表 23－12）供已知生活地区、性别的个体应用；B 类表（表 23－13～表 23－15）供有估计年龄范围的牙应用，如分 13～20 岁表，18～30 岁表、25～40 岁表。这些表中 C 为常数，R 为相关系数，S 为标准差，$S\bar{x}$ 为标准误。表中许多变量无赋值，这是因为应用多元回归法，该牙在此磨耗度下，对判断年龄不起作用。A 类表适用范围较广但准确性较差，B 类表判定年龄的误差以 13～20 岁的推定年龄表误差最小，与实际年龄误差 ±3 岁的小于 4%，25～40 岁和 18～30 岁的推定年龄表误差 ±3 岁和 ±5 岁分别为 25%～32% 和小于 10%。A 类表与实际年龄误差 ±3 岁占 33%～50%，±5 岁占 14%～34%，±7 岁占 4%～18%，误差 ±10 岁的小于 8%。

表 23－9 依牙齿磨耗度推断年龄表(农村、男)

颌牙	磨耗度					
	1	2	3	4	5	6
上颌右侧						
7	－	－	－	2.94	2.95	7.71
6	1.70	－	－0.80	1.50	7.02	10.28
5	1.91	4.14	－	－1.34	－	－23.08
4	－	－	6.10	1.72	－	－
3	－1.04	－	1.74	－	6.39	14.07
2	－	－0.46	－1.36	－	7.55	－
1	－	1.26	－	－	－	10.64
上颌左侧						
1	－6.01	－7.06	－3.38	－	14.45	－
2	－	－	－	－	－11.90	－15.72
3	－	－	－1.46	2.06	1.94	11.40
4	－	－	－1.08	－2.65	5.35	－
5	－13.20	－10.29	－8.34	－5.44	－	21.66
6	－	3.43	6.16	5.02	－	－8.90
7	－1.17	－	3.57	7.59	8.57	25.21
	C =36.89		R =0.97	$S\bar{x}$=0.38		S =4.54
下颌右侧						
7	－	－	－	－	4.91	－4.68
6	－4.10	－4.00	－	－	－	－
5	－	－1.77	1.87	－	6.34	8.32
4	－	－	－	－5.42	－14.70	10.58
3	－	－1.12	0.86	－	－	－
2	－2.63	－	1.24	2.62	－	－
1	－	－	－	3.97	－	5.43
下颌左侧						
1	－	－1.73	－	－	－	－
2	－	－	－	－3.61	5.16	－
3	－3.49	－2.81	－	－	7.95	－6.87
4	－	－	－2.25	－	－	－
5	－2.61	－	－	5.17	4.34	－
6	－1.90	－	－2.01	－	－	9.74
7	－3.93	－1.05	－	8.44	13.73	25.78
	C =36.57		R =0.97	$S\bar{x}$=0.37		S =4.2

[引自宋宏伟《法医学杂志》1987,3(4):23]

表 23－10　依牙齿磨耗度推断年龄表(农村、女)

颌牙	磨耗度					
	1	2	3	4	5	6
上颌右侧						
7	–	–	1.35	6.00	11.54	–
6	–	–	–	1.69	4.69	11.82
5	–	2.38	–	–	14.93	21.04
4	–	–	–	−3.41	−3.85	–
3	−1.05	–	–	−1.61	−21.66	5.46
2	–	–	1.74	–	10.43	–
1	–	–	1.95	–	−11.84	–
上颌左侧						
1	–	2.27	−2.49	–	−2.78	–
2	−10.00	−7.81	−4.40	–	–	9.50
3	−3.68	−1.87	–	–	–	–
4	–	–	1.07	–	5.12	–
5	–	–	–	4.81	8.66	–
6	−1.27	–	–	–	−4.51	−9.03
7	−8.61	−6.32	−3.54	–	–	5.46
	C =43.74		R =0.93	$S\bar{x}$ =0.35		S =4.96
下颌右侧						
7	−6.76	−3.92	−2.73	–	–	6.62
6	–	–	2.33	2.97	2.60	−17.11
5	1.50	–	–	–	4.93	–
4	–	0.92	–	1.84	10.07	13.27
3	–	–	–	–	–	15.07
2	–	–	1.27	–	–	–
1	–	–	–	2.21	–	–
下颌左侧						
1	3.54	–	–	2.85	4.57	–
2	−1.14	–	–	−5.44	−4.63	–
3	−1.67	–	–	5.69	–	–
4	−1.25	–	1.09	–	−2.78	–
5	−2.65	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–
7	−3.04	−1.88	–	5.84	14.31	13.52
	C =34.77		R =0.92	$S\bar{x}$ =0.37		S =5.24

[引自宋宏伟《法医学杂志》1987,3(4):23]

表 23－11　依牙齿磨耗度推断年龄表(城市、男)

颌牙	磨耗度						
	0	1	2	3	4	5	6
上颌右侧							
7	－1.73	－1.72	－	3.54	－	2.79	－38.56
6	－	－	－	2.02	3.99	3.15	47.60
5	－4.91	－2.85	－	－	3.64	－10.11	－
4	－	－	－2.11	－	3.96	12.23	－
3	－	－	－	－1.79	－3.90	－16.28	－
2	－	－	－1.15	－	－	－6.31	－
1	－	－	－	3.26	1.88	－	－
上颌左侧							
1	－	－	1.51	2.64	7.49	－	－
2	－	－	－	－	－7.51	23.93	15.20
3	－6.61	－6.30	－4.24	－2.81	－	－	－
4	－	－	1.53	2.44	－	22.88	－
5	－1.23	－	－	－1.10	3.14	8.70	－
6	－	－	－	－	8.52	11.98	－
7	－	－	1.03	5.86	13.58	14.07	25.64
	C =28.64		R =0.97		$S\bar{x}$=0.26		S=4.12
下颌右侧							
7	－	－	－0.97	8.13	7.31	7.53	－14.29
6	－	－	3.12	4.44	8.79	9.08	74.42
5	－	－0.99	－	2.06	10.06	24.07	－99.04
4	－	－	－1.66	－	8.11	35.07	－
3	－	－	－	－	－7.26	－17.26	－34.95
2	－	－	1.04	－1.22	4.51	－	－
1	－1.17	－	1.27	8.55	4.51	3.24	22.27
下颌左侧							
1	－	－	－	－2.83	－	－	－
2	－	－	－	－	－9.03	－4.26	－
3	－3.05	－3.44	－1.01	－	6.50	－	－
4	－	－	－	5.62	15.84	－26.04	－
5	－1.61	－	－	2.92	－15.68	－62.73	－
6	－	－	－	－	－	－2.53	－
7	－	1.98	4.43	6.82	3.14	－	51.74
	C =17.66		R =0.96		$S\bar{x}$=0.31		S=4.87

[引自宋宏伟《法医学杂志》1978,3(4)24]

表 23－12　依牙齿磨耗度推断年龄表(城市、女)

颌牙	磨耗度						
	0	1	2	3	4	5	6
上颌右侧							
7	－11.40	－9.08	－7.57	－	－	－4.41	15.16
6	－	－0.65	－	1.55	5.23	4.99	－
5	－1.75	－	0.70	3.45	7.05	－	－
4	－	1.42	－	4.74	5.04	－	26.85
3	－5.74	－	－5.25	－3.45	－5.25	－	－
2	－	－	－	4.72	－	－	17.29
1	－3.54	－1.77	－	－	3.10	－	－
上颌左侧							
1	－	－	－	1.91	2.24	9.05	－
2	－	－	－	3.06	6.14	－	－
3	－	－	0.64	－1.21	－	－5.02	－
4	－	－	1.72	3.57	－2.71	－	6.57
5	－	－	－	－	－	5.20	－5.29
6	－	－	－	3.59	7.75	4.42	8.87
7	－	－	－	1.17	－	－	－
	C =34.18		R =0.97		$S\bar{x}$ =0.24		S =4.26
下颌右侧							
7	－	－	2.32	9.59	17.32	14.51	－
6	－	－	－0.86	－	－3.69	－	－
5	－1.91	－	－1.44	－1.29	－	－8.68	－
4	－	－	－	3.28	－	－	－
3	－	－	0.87	－1.85	5.55	－	－
2	－	－	0.99	－	－	－	－
1	－1.27	－2.08	－	2.91	4.68	－	－
下颌左侧							
1	－	0.98	－	2.14	－	－	16.73
2	－	－	－	－1.18	4.63	－	17.25
3	－1.71	－	－	2.82	－	8.77	－
4	－	－	2.98	2.12	7.42	6.67	－
5	－	2.04	－	－	－2.83	－7.93	－
6	－	－	－	2.26	13.97	10.08	－17.03
7	－	－	1.82	3.99	－	－	28.55
	C =17.06		R =0.95		$S\bar{x}$ =0.28		S =4.26

[引自宋宏伟《法医学杂志》1987,3(4)24]

表 23－13　依牙齿磨耗度推断年龄表(13～20 岁)

颌牙	磨耗度			
	0	1	2	3
上颌右侧				
7	－1.53	－	－	－
6	－	－0.27	0.44	2.03
5	－1.28	－	－	1.24
4	－	－	－1.62	－
3	－	－	0.74	－
2	0.67	0.34	－	4.98
1	－2.12	－1.14	－1.30	－
上颌左侧				
1	－	－	－	－3.32
2	－	－	－	2.55
3	－0.50	－	－	－2.55
4	－	－	0.47	1.07
5	－0.99	－0.40	－	－
6	－	－	－0.20	－
7	－0.84	－	－	－
	C =19.28	R =0.83		$S\bar{x}$=0.096
下颌右侧				
7	－	－	－	－
6	－	－	0.65	1.53
5	－	0.38	－	－
4	－0.78	－	0.59	－
3	－	－	－	－0.60
2	－	－	－	－3.55
1	－	－	－	1.25
下颌左侧				
1	－	－	－	－0.64
2	－	－	－	2.71
3	－0.90	－	0.36	－
4	－0.42	－	0.71	－
5	－1.15	－	－0.88	－
6	－	－	－0.47	1.08
7	－0.82	－	－	－
	C =16.74	R =0.79		$S\bar{x}$=0.011

(引自贾静涛《法医人类学》P460)

表 23－14　依牙齿磨耗度推断年龄表(18～30 岁)

颌牙	磨耗度			
	0	1	2	3
上颌右侧				
7	–	–	1.42	3.21
6	–	–	−1.47	–
5	–	–	–	1.13
4	−1.76	–	–	–
3	−3.29	–	−0.67	–
2	–	0.43	–	–
1	–	−1.22	–	–
上颌左侧				
1	–	−0.47	–	0.65
2	–	–	–	−1.36
3	–	−2.32	−1.24	–
4	–	1.23	–	–
5	–	–	–	1.10
6	–	−0.41	–	1.79
7	−2.52	–	–	–
	C =23.94	R =0.65		$S\bar{x}$ =0.15
下颌右侧				
7	–	–	–	1.69
6	–	–	–	0.73
5	–	0.85	–	2.49
4	–	0.51	–	–
3	–	0.36	–	0.81
2	−1.91	−0.52	–	–
1	–	−1.02	–	–
下颌左侧				
1	–	–	0.53	–
2	−1.78	–	–	0.45
3	–	–	1.18	3.59
4	–	0.85	–	–
5	–	–	0.38	–
6	–	0.56	–	–
7	–	–	1.43	2.79
	C =18.73	R =0.61		$S\bar{x}$ =0.16

(引自贾静涛《法医人类学》P461)

表 23－15　依牙齿磨耗度推断年龄表(25～40 岁)

颌牙	磨耗度			
	1	2	3	4
上颌右侧				
7	–	–	0.48	–
6	－0.85	–	–	0.74
5	–	1.25	–	1.07
4	–	–	–	–
3	0.71	0.96	–	－1.47
2	－1.99	－0.97	–	–
1	–	－1.69	–	3.14
上颌左侧				
1	–	2.01	–	－3.32
2	–	0.50	–	–
3	–	–	1.37	1.02
4	–	–	1.47	–
5	－2.33	－0.92	–	–
6	2.14	–	–	–
7	–	2.06	4.30	5.38
	C =29.03	R =0.73		$S\tilde{x}$ =0.19
下颌右侧				
7	–	0.69	3.35	4.43
6	－1.45	–	－0.66	–
5	－1.23	－1.09	–	–
4	–	–	–	–
3	–	–	0.52	–
2	–	0.43	–	－0.97
1	–	–	–	–
下颌左侧				
1	－3.34	－1.51	–	–
2	1.45	–	–	1.05
3	2.22	1.64	1.01	–
4	–	–	–	1.46
5	－0.87	–	–	1.77
6	－1.24	–	1.00	–
7	–	–	0.67	0.82
	C =29.83	R =0.72		$S\bar{x}$ =0.20

(引自贾静涛《法医人类学》P462)

第四节　根据身高和骨骼长度推断活体年龄

生长发育存在普遍规律，骨骼长度、身高、体重随年龄增长而逐年增加。到了青春期，性器官和第二性征逐渐发育，因此，通过对骨骼长度、身高、体重、性器官和第二性征的观察，可以对儿童和青少年被检对象的年龄加以推断。但由于影响个体生长发育的因素较多，用上述指标推断年龄误差较大，故在实际应用中仅作参考。

一、根据身高推断活体年龄

我国哈尔滨、武汉、广州3个地区儿童和青少年身高与年龄关系见表23－16。

表23－16　我国3个地区儿童和青少年身高与年龄的关系（平均值）

年龄	男性身长（厘米）			女性身长（厘米）		
	哈尔滨	武汉	广州	哈尔滨	武汉	广州
3～4	92.8	–	–	92.5	–	–
4～5	100.6	–	–	99.65	–	–
5～6	106.9	–	–	105.3	–	–
6～7	111.8	110.7	110.8	111.8	110.8	–
7～8	118.8	115.2	115.1	117.2	115.5	114.8
8～9	121.4	120.0	119.0	120.3	119.1	118.9
9～10	125.6	124.3	123.3	124.9	124.1	123.6
10～11	131.3	128.8	127.6	130.9	128.8	128.4
11～12	135.9	132.9	131.4	134.8	132.7	133.1
12～13	141.0	137.4	137.2	142.2	138.4	138.8
13～14	147.9	141.9	144.1	149.2	143.6	145.5
14～15	153.0	147.6	150.6	152.6	147.2	150.1
15～16	159.6	153.6	157.7	154.3	151.5	152.4
16～17	163.2	158.4	162.0	155.0	152.8	153.9
17～18	166.2	163.0	163.5	155.3	–	154.8
总人数	4 425	5 532	5 426	4 046	4 045	3 427

（转引自陈东启）

二、根据骨骼长度推断活体年龄

Kimurak（1976年）根据X射线片研究了日本人男女性共923人的右第二掌骨骨干长与年龄的关系，其结果如表23－17。

表 23－17　第二掌骨长的均值与年龄的关系(mm)

年龄(年:月)	男性	女性
0:7～1:6	21.9	22.9
1:7～2:6	29.2	30.0
2:7～3:6	32.6	33.3
3:7～4:6	35.8	35.6
4:7～5:6	37.4	38.5
5:7～6:6	39.8	40.9
6:7～7:6	43.9	45.2
7:7～8:6	48.1	46.9
8:7～9:6	49.3	49.6
9:7～10:6	51.3	50.8
10:7～11:6	53.3	54.4
11:7～12:6	55.2	57.0
12:7～13:6	57.4	57.9
13:7～14:6	59.9	58.4
14:7～15:6	62.2	58.9
15:7～16:6	63.7	59.4
16:7～17:6	64.6	59.5
17:7～18:6	65.0	59.4

(引自贾静涛《法医人类学》P149)

除以上这些指标外,还可根据颜面软组织状态对活体年龄做出粗略的估计:30 岁前后,颧骨以下颊部因皮下脂肪减少而凹陷;下颌、颈前部上方的皮下脂肪组织增多,而使下颌变成二重即双下颌;眼外眦外侧皮肤发生皱纹,呈鸟爪状。35 岁开始,鼻唇沟明显变深。50～60 岁时,在外耳门周围开始出现耳毛。60 岁左右,颈部皮肤皱纹变化明显。

参 考 文 献

1. 陈世贤主编. 法医人类学. 北京:人民卫生出版社,1998
2. 贾静涛主编. 法医人类学. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1994
3. 邓浩,谢细仁,彭汝标. 海南汉族男性青少年骨骺愈合年龄的 X 光研究. 刑事技术,1996,6:24～26
4. 宋宏伟,贾静涛. 牙齿磨耗分度的研究. 法医学杂志,1986,2(4):15
5. 宋宏伟,贾静涛. 根据牙齿磨耗度推断年龄的研究. 法医学杂志,1987,3(4):21～26
6. 欧阳镇,唐锡麟,刘宝林. 肘部骨骼年龄判定方法的研究. 中国法医学杂志,1987,2(2):81～84

附录

附录一　美国 DNA 顾问委员会(DNA Advisory Board,DAB)

(一)美国司法部(Department of Justice)颁布的一系列计划

为了更好地确定犯罪嫌疑人,最大限度地减少审判的失误,限制犯罪率的上升,提高美国的法医鉴定水平,特别是提高地方和地区性的较小的刑事犯罪实验室的水平,提高整个国家在生物证据分析方面的水平,美国司法部制定颁布了一系列的计划,如(纪念爱德华·伯尔尼)州和地方法律强制执行协助计划(the Edward Berne Memorial State and Local Law Enforcement Assistance Program,1990),DNA 实验室改善计划(the DNA Lab Improvement Program,1996),州鉴定系统规则确认计划(the State Identification Systems Formula Grant Program,1997)等。并请国家标准和技术研究院(The National Institute of Standards & Technology,NIST,商业部)的法律强制执行标准办公室(Law Enforcement Standards Office)和国家司法研究院(National Institute of Justice, NIJ,司法部)合作,评价这些计划的实施情况。

应美国检察长 Janet Reno 的要求,1998 年美国成立了"国家未来 DNA 证据(评估)委员会(The National Commission on The Future of DNA Evidence)",C. H. Asplen 担任委员会执行主任(Executive Director)。当她阅读了某些被错误宣判为强奸或他杀罪的人在使用了 DNA 证据以后,被证明无罪的案件后,她开始关注其他人有可能也被错误地宣判有罪。检察长指示国家司法研究院研究有多少案例是利用 DNA 证据,将被错判有罪的被告证明无罪的。经过广泛的研究之后,NIJ 发表了"陪审团宣判有罪,科学证明无罪,在审判后用 DNA 证据确认无罪的案例研究"的报告。其中介绍了 28 例被拘捕者,经 DNA 分析却证明其清白的案例。至 1998 年,至少有 61 人被捕,有些还准备判死刑的人被 DNA 证据证明无罪。在了解了有关法庭 DNA 证据的作用和意义以后,检察长要求 NIJ 成立一个委员会,以检查法院应该如何来鼓励在将来发挥 DNA 证据的最高效能。委员会由检察官代表、辩护律师、法律强制执行官、自然科学界、医学检察官、(学院派哲学)学会和受害者权益组织等共同组成。委员会向 FBI(Federal Bureau of Investigation,联邦调查局)局长提出推荐意见,经检查以后签发"罪犯 DNA 数据实验室的质量保证标准"。这些标准于 1999 年 4 月 1 日生效。

(二)美国国会授权 FBI 局长建立(采用 DNA 证据时)的质量保证标准

包括对从事 DNA 分析的法庭科学实验室和科学家的资格认定和质量检测。美国 DNA 顾问委员会(DNA Advisory Board, DAB)由美国联邦调查局(FBI)局长根据美国 DNA 认定法案(DNA Identification Act)(1994)组织成立。

按照 DNA 认定法案,国会要求局长指定 DAB 进行下列活动。

制定并定期校正以及推荐质量保证标准,包括对从事 DNA 分析的法庭科学实验室和科学家进行检验评估,指导 DNA 分析工作;

推荐能够保证质量的评估标准和不同类型 DNA 分析的有效检测方法,以及用于评价 DNA 分析结果的有关的统计学和群体遗传学资料;

在 FBI 的 CODIS(The National Combined DNA Index System)中推荐采用 DNA 图谱(profiles)的标准;

制订一个熟练程度分级检验操作系统以检验某个实验室是否可以进行 DNA 检测。

通过认真熟悉这些质量标准,DAB 认识到需要一个机制以保证这些标准得以执行。DAB 建议进行 DNA 分析的实验室尽快建立标准档案,以证明实验室执行了这些标准并具有良好的质量控制。在认真进行全面考察以后,1998 年 10 月 1 日 FBI 局长的"法庭科学 DNA 分析实验室质量保证标准"(Quality Assurance Standards for DNA Analysis Laboratories in Forensic Science)开始生效。符合这些国家标准后,作为参与国家 DNA 检索系统(NDIS)的资格证书。

(三)法庭 DNA 分析科学家的受教育背景和工作经验

DAB 特别强调从事法庭 DNA 分析实验室的主任/经理至少有生物学、化学或法庭科学相关领域的硕士学位。其技术主管必须至少完成 12 个学期或相当学时数的课程,包括生物化学、遗传学和分子生物学,或其他提供学习有关法庭 DNA 分析基础知识的学科。此外,这些人还必须有现代统计学和(或)群体遗传学方面的知识。实验室的技术主管必须至少有 3 年的法庭 DNA 实验室工作经验。对少数的人来说,受教育的背景可以稍微放松一些,但是,3 年法庭 DNA 实验室的工作经验绝对不能少。

DAB 已经成立一个资格确认委员会来确认法庭 DNA 实验室及其主管的资格,每 2 年一次。

DAB 向 FBI 局长推荐"罪犯 DNA 数据实验室的质量保证标准"(Quality Assurance Standards for Convicted Offender DNA Databasing Laboratories),这些标准于 1999 年 4 月 1 日生效。法案还要求国家司法研究院(NIJ)评价对法庭 DNA 分析实验室的水平进行盲测试验的有效性和可行性。盲测试验方案将由法律强制执行局推行。

但是,国家法庭 DNA 评估小组(National Forensic DNA Review Panel ,NFDRP)对一些实验室 DNA 分析能力进行调查以后发现,盲测 DNA 实验能力的方案(blind DNA proficiency testing program)暂时还不合适。

(四)对实验室在 DNA 分析技能的考核结果进行分级

分为满意和不满意 2 个级别。满意者没有 DNA 分型错误的记录;不满意者为有 DNA 分析的错误记录,对错误要进行登记,并要采取改正措施,减少以后的错误。

DAB 目前的工作是:(制定)评价并推荐法庭 DNA 分析技术人员的资格标准;处理有关同一认定,混合标本,亲权关系和 CODIS 资料库相关的群体遗传学和统计学事项。

(五)关于法庭分子生物学实验室技术人员的培训

有学者提出,为了更有效地发挥法庭科学实验室的作用,对本来就不充分的资料能充分地利用起来,传统的教育方法需要几年长的时间,包括学习化学、物理学、数学和生物科学等,不能适应现在的需要。短期培训能使技术人员达到必要的技术水平完成特殊任务。对有关的实验室(crime laboratory)的技术人员来说,需要进行在职训练(training on - the - job)。由于在分子遗传学方面的知识迅速发展,对这些实际操作人员,不仅需要提高他们的技艺(通过适当的"训练"),也需要提高他们的知识基础(通过

必要的"教育"),认为需要"职业大学课程(career university sector)"。这种课程能提供有效的教育和训练计划给在职专业人员,其主要方法是通过网络提供必要的实践服务课程。美国开设了非同期学习网(asynchronous learning networks,ALN),其中开设了法庭生物化学(forensic biochemistry)。

(六)建立国家联合 DNA 检索系统(National Combined DNA Index System, 简称 CODIS)

1990 年,FBI 成立了 CODIS,为 14 个州和地方 DNA 实验室提供服务,并将法庭科学与计算机技术结合起来作为解决暴力犯罪的有效工具。CODIS 使用 2 套检索系统,一套是利用在犯罪现场可以找到的生物学证据来提供犯罪案件调查线索;另一套是证明罪犯有罪的检索系统,含有证明(性犯罪和其他暴力犯罪)重复犯罪者的 DNA 图谱。法庭检索系统则含有从犯罪现场证据中获得的 DNA 图谱,如精斑或血痕 DNA 图谱。CODIS 使用计算机软件自动检索该系统中与之匹配的 DNA 图谱。至 1999 年 9 月,CODIS 已在 44 个州和 Columbia 特区的超过 100 个犯罪审判实验室装载完毕。全美 80 个实验室的约 400 个法庭科学检验员接受了 CODIS 训练。FBI 免费将 CODIS 软件,连同装载、训练、用户支持系统提供给州和地方法律强制执行实验室,以进行 DNA 分析。CODIS 中应用的 STR 位点据说是经过美国广泛调查以后确认的,推荐的一共有 13 个位点,包括 TPOX、D3S1358、FGA、D5S818、CSF1PO、D7S820、D8S1179、TH01、vWA、D13S317、D16S539、D18S51、D21S11(PowerPlex™1.1)。后来又增加了 Penta D 和 Penta E 2 个位点(GenePrint PowerPlex™16.2)。

此外,FBI 继续资助新软件的开发,以增强 CODIS 软件的功能。新的 CODIS 版本将于 2000 年中开发出来。

(七)FBI 建立国家 DNA 检索系统(National DNA Index System, NDIS)

这是由联邦、州和地方的各级法律强制执行局共同合作的一个项目。NDIS 使全美国公共的法庭科学实验室能够通过电子(邮件)交换和比较 DNA 图谱,因此,能彼此将未破案的暴力犯罪系列联系起来,以便找出罪犯。1998 年 6 月,美国全部 50 个州已经通过法律手续要求证明有罪的罪犯提供样本,建立 DNA 数据库。这些州已经收集超过 700 000 份 DNA 样本,并已分析了超过 300 000 份。全部 50 个州都被邀请加入 NDIS,并希望他们都能够将证明有罪的罪犯的 DNA 图谱和法医现场 DNA 图谱献给 NDIS。

另外,拉丁美洲国家的所有 DNA 分型实验室之间可进行合作、沟通交流及共享技术知识和经验,互相协助改善实验室的质量保证和质量对照方案。参加的国家有智利、阿根廷、乌拉圭、巴西、委内瑞拉、哥伦比亚、哥斯达黎加、墨西哥、波多黎各、萨尔瓦多、西班牙。

附录二　建立中国司法鉴定 DNA 实验室管理条例的建议

2001 年 6 月

随着 DNA 分析技术的发展,实验程序的简化和规范化,实验操作的机械化以及实验结果分析的自动化,许多以前只在大学或大型研究所里才能开展的实验技术开始进入普通的实验室,甚至在一些医院的检验科里也已经开始进行 DNA 的分析检验,并面向社会服务。其中的一些检验结果被司法机关或有关的行政部门作为审判或执行行政法规时判断事件性质的法律依据。但是,由于 DNA 分析工作的特殊性,特别是要保证在司法和执行行政法规时要求的高度严肃性、科学性、公正性和权威性,加强对此类实验室的管理,对预防某些不良事故的出现,是十分必要的。

目前在我国,为司法鉴定服务的 DNA 实验室除个别的,如上海的司法部司法鉴定技术研究所直接隶属于司法部以外,可以分为两大类,一类在公安、检察、法院系统,另一类在高等院校的法医学系或法医学教研室里。还有极少数的是在某些卫生系统机构中。司法部已经着手采取措施对面向社会服务的司法鉴定机构实行管理。为此,特建议对进行司法鉴定的 DNA 实验室提出下列要求,并须经过审核。

(一)实验室资格的认定

进行司法鉴定 DNA 检测的实验室必须具备下列资质。

1. 有一名经验丰富的 DNA 分析专家作为实验室的业务主管。该专家须具有法医学和分子生物学硕士或以上学位,并有从事法医 DNA 分析工作 3 年以上的经验。他(她)应该懂得 DNA 分析工作的常规、DNA 检测结果的分析和其中存在的可能陷阱、相关的法律和法规,以及熟悉 DNA 实验室的管理和质量控制。

2. 有良好的实验场地和设备。

3. 有 3 名以上受过专业训练的专职专业技术人员。

4. 有一套质量控制措施。

5. 有经过统计分析确定的当地人群相关项目的 DNA 数据,如各 STR 位点的等位基因频率,该人群中各 STR 位点的突变率等。

(二)DNA 实验室专业技术人员的资格认定

1. 须具有法医学或分子生物学学士学位的专业技术人员,并有在 DNA 实验室工作一年以上的经验,才能独立进行 DNA 分析工作。

2. 熟悉 DNA 实验室的操作规程。

3. 需要有防止 DNA 污染的知识。

4. 熟悉法医学上常见的特殊检材的处理程序。

5. DNA 检测技术实际操作考核合格。

(三)完整保存实验室工作记录

包括所有实验记录,原始结果资料,错误结果或结论的记录。这些记录必须详细以备检查。

(四)完整保存实验室档案资料

包括 DNA 检测结果、检验报告。

(五)完整保存 DNA 实验室质量评估指标

1. 检验错误的记录。

2. 盲测结果的记录。

(六)实验室业务主管

针对实验室 DNA 分析工作中可能出现的差错,业务主管须有有效对策,如有保证实验室工作条件(水质、手工或机器等方面)的措施,避免污染(标本间污染、操作污染、PCR 产物污染等)的措施,保证实验室操作的规范化及人员专业水平素质(具有能识别非特异性产物等能力)的措施。

实验室有严格的管理,专业技术人员的工作经常有实验室业务主管的监督指导,能随时发现问题并得到及时处理。

此外,建议司法部会同有关部门协商以后,参考美国的经验,组建中国 DNA 顾问委员会。DNA 顾问委员会负责对司法 DNA 实验室的资格认定和相关 DNA 专业技术人员资格的审查;制定 DNA 实验室质量保证标准;推荐适合中国人群的 DNA 分析位点和相应的检测技术;审查各 DNA 实验室进行的人群调查资料的可靠性,确定并推广适合中国国情的 DNA 数据资料;推荐经过检验的用于 DNA 数据处理的应用软件;考察司法 DNA 实验室对某些案件所做结论的科学性等。

附录三　建立中国亲子鉴定判断标准的建议

2001 年 6 月

在我国,凡从事亲子鉴定工作的实验室必须具备下列条件和执行下列标准。

1. 基本项目　常染色体 STR 位点 16 个(包括 TPOX、D3S1358、FGA、D5S818、CSF1PO、D6S939、

D7S820、D8S1179、TH01、vWA、D13S317、FES、D16S539、D18S51、D19S253、D21S11)。

2. 后备项目　至少 14 个位点,包括常染色体 D3S1359、D3S1539、D8S384、D12S391、D13S631、D16S690、D19S433、D20S85、pentaE、pentaD 等(这些位点的选择原则是位点之间互相不连锁,突变率较低,等位基因之间容易区分等)以及 X 染色体的 DXS101、DXS7132、DXS6799、DXS6804、DXS1176、DXS6854、DXS7424 等,6～8 个 Y 染色体 STR 位点(包括 DYS385、DYS388、DYS390、DYS19、DYS391、DYS392 等)。

这些位点各等位基因在本地人群中的分布资料,经过统计学处理后证明是符合 Hardy－Weinberg 平衡的。

3. 双亲案　在所检查的 14 个常染色体 STR 位点不违反孟德尔规律的前提下,计算其父权指数(paternity index)等于或大于 1 000(W 值等于或大于 0.999),可以肯定存在亲生关系。

双亲案若有 1 个位点不符时,增加检测位点至 16 个。若增加的位点的遗传都不违反孟德尔规律,则可以把不符合遗传规律的那个 STR 位点当作发生了突变来处理,并计算其父权指数。此时突变位点的父权指数要按照 Ayres KL 公式(Forensic Science International. 2000,114:107～115)计算。最后肯定亲生关系的标准仍按照第 2 条执行。

双亲案若有 2 个位点不符时,必须增加检测位点数至 24 个。在没有新的 STR 位点违反孟德尔规律的情况下,可以把不符合遗传规律的 2 个 STR 位点当作发生突变处理,并计算其父权指数。突变的 2 个位点的父权指数仍然按照 Ayres KL 公式计算。最后肯定亲生关系的标准亦按照第 2 条执行。

若所检测的 STR 位点之中,有 3 个或 3 个以上位点不符时,就可以否定亲生关系的存在。

4. 单亲案　若检测的 STR 位点有 3 个或 3 个以上不符合遗传规律时,同样表示否定亲生关系的存在。但是,在单亲案,如果检测的 14 个位点,甚至更多的位点都不违反遗传规律时,不能轻易下肯定有亲生关系的结论,尤其是只检查父子的 STR 位点时。此时,可下不排除亲生关系的结论。

5. 试剂盒选用　不能盲目使用进口试剂盒,随便地应用于亲子鉴定实际案件。进口试剂盒用于亲子鉴定之前,必须先要进行大量的当地中国人群调查,其资料要经统计学处理证明符合 Hardy－Weinberg 平衡;同时要用已知有亲生关系的家庭成员和没有亲生关系的个体样本进行盲测,确定这些试剂没有不适宜中国人群的情况存在之后,才能开始实际应用。

6. DNA 实验室条件　进行亲子鉴定的 DNA 实验室,必须具备有 Y 染色体 STR 分型试剂和线粒体 DNA 测序条件。在一些特殊案件,必须用相应的 Y 染色体 STR 分型技术或线粒体 DNA 测序技术给予认证。

附录四　建立亲子鉴定 DNA 实验室管理条例的建议

2001 年 6 月

随着我国改革开放的深入,国民经济的迅速发展,人民的生活水平得到了迅速提高;同时由于与国际间的交流日益频繁,人们在许多方面的观念发生了改变。特别是我国日益健全的法治建设,以及多年来积极有效的全民法治宣传教育工作,使得公民的法治意识增强,从而使有关亲子鉴定方面的要求会越来越多。

同时,由于有关亲子鉴定技术的规范化、操作的机械化、某些实验操作试剂的商品化,使某些原来并不进行亲子鉴定的单位认为这是一件很简单的工作,又有利可图,因而也开展这一业务。其中的一些检验结果被司法机关或有关的行政部门作为审判或执行行政法规时判断事件性质的法律依据。由于 DNA 分析工作的特殊性,特别是要保证在司法和执行行政法规时要求的高度严肃性、科学性、公正性和权威性,所以,加强对此类实验室的管理,预防某些不良事故的出现,十分必要。

为此建议司法部会同有关部门组织专家小组制定相关的要求和管理条例,规范亲子鉴定 DNA 实验

室的工作，严格控制其操作程序，制定统一的“亲子鉴定判断标准”，保证其鉴定结果的科学性和可靠性，以利于亲子鉴定工作的规范化和管理科学化。建议管理条理包括以下内容。

（一）实验室的资格审查

从事亲子鉴定 DNA 实验室必须具备下列条件。

1. 有一名经验丰富的 DNA 分析专家作为实验室的业务主管。该专家须具有法医学和分子生物学硕士或以上学位，并有从事法医 DNA 分析工作 3 年以上的经验。他（她）应该懂得 DNA 分析工作的常规、DNA 检测结果的分析和其中存在的可能陷阱、相关的法律和法规，以及熟悉 DNA 实验室的管理和质量控制。

2. 有良好的实验场地和设备。

3. 有 3 名以上受过专业训练的专职专业技术人员。

4. 有一套质量控制措施。

5. 必须具备经过统计分析确定的、当地人群相关项目的 DNA 数据，如各 STR 位点的等位基因频率，各 STR 位点在该人群中的突变率等。

（二）DNA 实验室专业技术人员的资格认定

1. 必须具有法医学或分子生物学学士学位的专业技术人员，并有在 DNA 实验室工作一年以上的经验，才能独立进行 DNA 分析工作。

2. 熟悉 DNA 实验室的操作规程。

3. 需要有防止 DNA 污染的知识。

4. DNA 检测技术实际操作考核合格。

（三）亲子鉴定标准的执行

执行我国亲子鉴定案判断标准。

（四）完整保存实验室工作记录

包括所有实验记录，原始结果资料，错误结果或结论的记录。这些记录必须详细备案以利检查。

（五）完整保存实验室档案资料

包括 DNA 检测结果，检验报告，实验室人员的档案及考核、继续教育记录。

（六）完整保存 DNA 实验室质量评估指标

1. 检验错误的记录。

2. 盲测结果的记录。

3. 管理水平的评估。

（七）实验室主管

必须有防范 DNA 分析工作中可能出现的差错的措施：保证实验条件（水质、环境卫生及仪器灵敏度及标准化等），减少污染的可能（标本间污染、操作污染、PCR 产物污染等），规范操作程序，确定技术人员专业素质的评价因素（影子带、非特异带、脐带血受母血污染等的辨认能力等）。

附录五　罪犯 DNA 数据库的实验室质量保证标准

DNA 顾问委员会

1999 年 4 月

1.　标准适用范围（scope）

本质量控制标准主要针对进行罪犯 DNA 常规检验的政府实验室，以检验其实验室能力及确保所得结果、资料的可靠性与真实性。那些独立的或与他人进行合作研究以及开发相关技术和试剂的实验室也可采用此标准，来进行质量控制。

2. 术语解释(definitions)

本标准中采用的一些术语有特殊含义,现解释如下。

行政性评估(administrative review):指对文档资料进行的评估,以保证资料与实验室政策的一致性,并排查一些编辑性错误。

扩增实验中的空白对照(amplification blank control):指在扩增实验(PCR)中应设置的空白对照(只有扩增试剂,不含模板 DNA)。该对照用来检验扩增试剂是否存在 DNA 污染。

分析程序(analytical procedure):指设计好的、有秩序的一步步实验工序,以确保操作的一致性,并尽量减少分析误差。

同批样本(batch):指同时进行分析的一组样本。

校准(calibration):指确定在特殊情况下 2 种数值间的关系的一系列操作,即确定某测量仪器和测量系统的显示值,或者是由某物质所代表的一个值与该测量方法应该得出的数值之间的关系。

联合 DNA 检索系统(combined DNA index system,CODIS):指受 FBI 管理的一套数据系统。它拥有来自于已定罪罪犯样本、法医学现场检材、普通人群样本及其他各种类型样本的 DNA 图谱资料(DNA profile)。

商业检测试剂盒(commercial test kit):指由商家预先将所用试剂搭配好的,可用于某种特定 DNA 分析检验的试剂盒。

已定罪罪犯(convicted offender):指依照法规,需要为 DNA 数据库送交一份标准生物样本备案的个人。

罪犯数据库(CODIS)管理者或监督者(或是由实验室总管任命的有与此相当的权力、职位或头衔的人)[convicted offender database (CODIS) manager or custodian]:指负责实验室 CODIS 的管理和安全的人。

定罪罪犯标准样本(convicted offender standard samples):指从一个符合标准的个人身上采集到的、用于 DNA 分析、并且结果须并入 CODIS 的生物样本。另见数据库样本。

关键性试剂(critical reagents):指根据日常工作经验确定的一些试剂,它们在使用前需要用已知的一些样本进行检验,确定试剂是否合格,以免造成不必要的样本浪费。

数据库样本(database sample):指已明确来源的一份血样或其他生物样本,该样本的 DNA 图谱资料将被收入到计算机化的数据库中,同时还要同库中其他 DNA 资料相比较以确认其惟一性。

鉴定人(examiner/analyst)(或是由实验室主管任命的具有相同权力、职位或头衔的人):指亲自进行和/或指导别人进行样本分析、数据计算并最终下结论的人。

已知样本(known samples):指那些已经确定了其来源及 DNA 类型的生物样本。

实验室(laboratory):在此指一个政府机构,它可以独立完成罪犯 DNA 检测,或者它已经与一个可以完成这样检测的二级机构建立了合约关系。

实验室辅助人员(laboratory support personnel)(或是由实验室主管任命的行使类似功能的人员):指作实验室中除样本分析外的其他工作的人员。

NIST:指国家标准与技术学会(National Institute of Standards and Technology)。

能力测试样本(proficiency test sample):指已经预先确定过其 DNA 基因型的生物样本,主要用来对某些实验室或个人在完成 DNA 检测的过程中的质量状况进行监控。

能力测试(proficiency testing):指一套用来监控实验室技术分析工作进行情况、确认工作中需要改进的环节的质量监控手段。这种测试可分为 2 种:内部测试及外部测试。前者指实验室自己筹备并实施的;后者指由代理机构来完成的测试,测试可以是公开的或保密的。

资格测试(qualifying test):应包括理论与技术两方面熟练性的测试。

质量保证(quality assurance):包括一系列的措施,这些措施对确定某些产品或服务是否符合特殊的质量要求是必要的。

质量控制手册(quality manual):指记载了某组织进行质量监控的有关政策、体系组成和具体操作方法的书面材料。

质量控制体系(quality system):指实施质量控制的组织结构、责任分工、工作程序及资源分配等制度。

试剂空白对照(reagent blank control):应包括在 DNA 测试过程中应用的所有试剂,不包括任何 DNA 样本。目的是为了检测这些分析试剂可能存在的 DNA 污染。

参照物(reference material)(已证实的标记物或标准):指已经由有效的技术方法证实其相关数据的标准物质,一般这些数据均有证书或其他一些有可靠来源的书面材料可以证明。

复查(review):指对文档资料进行的评估以确保其前后一致性、准确性和完整性。

安全区(secure area):指只有特定人员才能进入或接触的一个封闭区域,如某柜子、地下室及房间。

技术主管或领导(technical manager or leader)(或者是由实验室主管任命的行使类似功能的人员):指应对实验室的技术操作负责任的个人。

技术复查(technical review):指对实验报告、记录、资料及其他书面材料进行的审查评估,以确保最后能得出恰当的、有充分科学根据的结论。这项工作须由第二位有资格的人来完成(完成原始资料为第一位)。

技术员(technician)(或者是由实验室主管任命的行使类似功能的人员),即指 2 种人员:在鉴定人监控下完成样本分析技术操作的人员;对样本 DNA 数据进行分析,为 DNA 数据库筛选数据的人员。

可追溯性(traceability):指某种测试结果的一种属性,即无论如何,该结果都可通过比较与一些国际或国家标准联系起来。

验证(validation):指对某个程序是否能有效、可靠地进行 DNA 分析的评价过程。它包括 2 种:开发性验证(developmental validation)及内部验证(internal validation)。前者指对一种新的 DNA 分析方法的实验数据、实验条件及局限性等资料的认证与采集;后者指实验室内部对一些已建立的实验方法及程序所得的资料进行积累,以确定这些方法是否达到预期的效果。

3. 质量监控程序(quality Assurance Program)

实验室应该建立起适合于检验工作的,并形成书面材料的质量监控体系(即质量保证手册),所有员工均须遵守。质量保证手册至少应该包括以下项目:目标及对象;组织与管理;人员资格认定及培训;质控设施;样本控制措施;验证程序;分析程序;仪器的校准及维护;人员熟练程度测试;错误纠正措施;文档管理;复查机制;安全措施;审查制度。

4. 组织与管理(organization and Management)

实验室应设置下列岗位。

一名管理员,应具有能保证其行使责任的权利与资源,负责本规定中各项标准的充分实施。

一名技术主管或领导,负责实验室技术事宜的解释及处理。

一名 CODIS 管理员,负责 CODIS 的有关事宜。

实验室应有具体的书面材料,规定所有参与管理、具体测试、校验及其他能够影响 DNA 分析结果准确性的工作的人员的相应职责、权力以及他们之间的相互关系。

5. 人员要求(personnel)

5.1 实验室人员应该具备与其职位相符合的教育程度、技术熟练程度及经验。为达到此目的,实验室应采取下列措施。

要求每人写一份自己的工作描述,包括自己的职责、任务及需具备的技术。

每位实验室技术人员均需有一份备案的培训计划。

对技术主管、CODIS 管理员及鉴定人等人员应有档案以证明他们通过继续教育保持着任职资格。继续教育指上述人员应注意跟上 DNA 分析领域的最新发展,可通过阅读最新文献、参加研讨会或一些课程、每年至少参加一次相关专业培训班等途径来实现。

技术人员的资格、培训情况、技术能力及经验等情况均须有记录。

5.2 技术主管应具备以下条件

学历要求:至少需要是生物学或化学或法医学相关专业的硕士,并且必须读完至少 12 学期(或相

当的课时数)的大学本科课程,所学课程应包括生物化学、遗传学、分子生物学(即分子遗传学和重组DNA技术)等,或其他能帮助理解法医DNA分析原理与技术的学科。另外还需修统计学和(或)群体遗传学,这些学科在法医DNA分析中均须用到[注:符合下列情况的人员可破格任用,不受学历要求的限制:由美国社会犯罪实验室主任(ASCLD)任命的人;由FBI主管根据他们内部的协议任命的人。但这种破格期限只有2年(自本标准生效之日起)。破格证明书只是暂时的和可变更的]。

工作经验:要有3年以上解决相关问题的工作经验,或相关的实验室分析工作经验。

责任要求:

普通责任:管理实验室的技术工作。

特殊职责:①负责评估(监控)实验室当前使用的各种技术方法,并有责任提出新方法或改进的方法;②负责解决各种分析方法实施中遇到的技术问题,负责监管实验室中人员培训、质量监控、安全检查及员工熟练性测试等工作。

公开联系方式:技术主管应有各种联系手段,以便其他人员可及时联系来解决现场问题或通过电话解决问题,另外在必要时可通过电子邮件进行咨询。

5.3 CODIS管理员应具备下列条件

学历要求:至少为自然科学或计算机科学的学士学位。

工作经验:要求有计算机、计算机网络及计算机数据库管理等方面的工作知识及经验,同时应懂得DNA图谱所代表的含义。

责任要求:①负责实验室CODIS网络系统的管理,并负责CODIS中DNA信息的安全性;②负责监管CODIS计算机管理知识的培训工作,负责数据库中资料的质量监控工作;③有权在出问题时终止一些实验室计算机数据进入到CODIS,直到能确认其数据的可靠性。国家CODIS管理员可对其辖区内所有的CODIS分部行使上述权利。

5.4 鉴定人应具备以下条件

学历要求:至少应具备生物学或化学或法医学相关专业的学士学位,并且必须读完大学课程,所学课程应包括生物化学、遗传学、分子生物学(即分子遗传学和重组DNA技术)等,或其他能帮助理解法医DNA分析原理与技术基础的学科。另外还需学过统计学和(或)群体遗传学,这些学科在法医DNA分析中均须用到。

工作经验:至少要有6个月以上的DNA实验室工作经验,包括在独立进行DNA分析操作技术之前应能对一系列在罪犯DNA分析中会遇到的、比较典型的样本成功地进行分析。

独立工作前应通过资格测验。

6. 安全制度(facility)

实验室应制定一套安全制度以确保实验过程的安全性及减少污染。制度应包括以下几方面:①控制进入实验室的人数,闲人免进;②在进行PCR扩增之前的各种工作,如常规物证检查、体液样本检查、DNA提取及PCR的准备工作等,应分次进行或在不同的房间进行;③进行DNA扩增及扩增产物的处理和保存应在单独的房间进行,与常规物证检验、血液(体液)检验、DNA提取及PCR准备等操作分开;④若使用机械化工作站来完成DNA的提取及扩增,那么可在一个房间内进行。因为这样与手工分房间操作效果相同,都可使污染降低;⑤为更好地监控各种仪器设备,达到清洁、降低污染的目的,应有明文的安全规章制度。

7. 样本控制(sample control)

实验室应具备并遵守一套详细的样本控制方案(备案)。该系统应包括:①罪犯样本应有标记以确定标本来源;②每份样本的相关资料如来源、收集方法、收据、储存及处理方法等内容应备案;③应有明文制度以尽量减少样本的丢失、污染以及腐败等情况的发生;④实验室中应有专门为样本储存而设立的安全区,该区域的环境应能保持样本的自然状态(冷冻)。

8. 分析技术可靠性确认(validation)

实验室应确保其用于DNA分析的技术方法和实验程序的可靠性。

8.1 开发性验证(developmental validation)应做适当的证明记录(documented)。

8.2 新的用作建立DNA数据库的方法学(methodology)应该先经开发性验证以保证其准确性及重复性。确定DNA新位点时要有证明文件。

8.3 实验室应进行内部验证,结果需备案。①应用已知的样本对实验方法进行测试,如利用人DNA对照样本对实验方法的重复性和精确性进行监控并记录检测结果;②在将一种新方法或程序引入到数据库样本分析前,鉴定人均应通过有关新技术的资格测试;③对分析程序进行的更改应记录在案,并应再次进行验证测试。

9. 分析程序(analytical procedures)

9.1 实验室应具备并遵循由实验室管理主管和技术主管共同认可的,以书面形式记录的操作程序。

实验室中应用的每一项分析技术都应有相应的标准操作程序。这种程序应包括以下各项操作过程:试剂(配制和处理)、样本准备、DNA提取、仪器装置(使用方法)、DNA分析时的标准对照以及实验数据分析。

9.2 实验室应列出一些定购商业化试剂的途径及一些试剂的配方。每种试剂均应标记上名称、配制日期、有效期以及配制人名字。

9.3 实验室应采用恰当的对照和标准来对分析过程进行监控。

在进行PCR数据库分析时应采用以下对照:①应该采用一些标准物(standards)来估计提取得到的DNA的含量;②应设立阳性和阴性对照;③设立污染(控制)对照(在本标准生效之日前提取的样本,样本处理时未做试剂空白对照),只要其同批的样本未有污染的情况,该样本亦可认为是没有污染的;在进行VNTR位点分析时须应用等位基因ladders。

9.4 实验室应对其DNA分析手段及程序进行年检;另外,不论何时,只要对现有的技术程序作了重大改动,从而违背了NIST的一些现行标准,都需要对DNA分析手段进行检查。

9.5 实验室应具备并遵循形成书面材料的数据解析通用准则。分析结果时应注意所有对照物所得的结果应在允许误差范围内。

10. 仪器的校准与维护(equipment calibration and maintenance)

10.1 实验室应标明哪些是重要仪器,并应制定出完整的仪器调试计划。

在仪器调试时应用那些有效的、符合国际或国家标准的标准来进行校准(当没有条件应用符合国家标准的一些仪器或方法时,实验室应对其根据自己所采用的标准得出的结果与国家标准之间的相关性给出满意的解释)。

每种需要校准的仪器需多长时间校准一次应有明文规定并备案。文档需依法保存。

10.2 实验室应明文制定一些制度以确保仪器设备的正确维护。

新的关键性仪器设备,或曾经送检维修的仪器设备在使用前应进行校准。

仪器的使用及维修情况应记录在案以方便日后维修。文档依法保存。

11. 实验报告(reports)

实验室应有明文的程序,规定如何形成并维护有关数据库样本的资料。其中包括如何公布数据库样本信息。

12. 复查核对(review)

12.1 实验室应具备并遵循形成书面材料的程序,用来对数据库信息、实验结果和前后结果是否一致进行复核(实验室应有明文规定,在适当的位置标注出复核员与分析员之间的未解决的分歧)。

12.2 每年对实验室人员进行的测试的监控结果应记录备案。

13. 熟练程度测试(proficiency testing)

依照本标准,实验室鉴定人和其他由技术主管任命的,参与DNA分析工作的人员均需进行定期的、

由外单位主持的熟练性测试(external testing),测试间隔不得超过 180 天。这种测试应成为一种公开的测试程序。

13.1 实验室应在测试中记录以下条目:测试内容;测试者身份;测试时间及测试经历时间;测试中所得的实验结果相关的资料和记录的复件;测试结果;任何有差异的地方;采取的纠错行为等。这些资料依法应保存。

13.2 实验室应建立一项规章以评估熟练性测试,规章至少应包括下列条款:所有报告中的实验结果正确与否;所有报告中排除的结果正确与否;根据基因型与表现型是否一致或所得结果是否在经验性范围内,判断所有报告的基因型与表现型正确与否;所有非结论性或未能阐明的结果是否与实验室数据解析准则中的要求相一致。测试中那些非结论性的说明所依靠的根据应记录在案;所有差异(错误)及随后的更改情况均需记录;所有最终的报告应给予分级:满意和不满意。在 DNA 图谱分型(DNA profile typing)数据中没有分析性错误者给予满意。对于管理性错误应记录下来,并采取纠正措施以防再犯;通知所有被测试者最后的测试结果。

14. 错误纠正措施(corrective action)

实验室应该为在熟练性测试中发现的差异和(或)分析时发生的错误建立一套有关的纠正措施程序,并对所采取的纠错措施建立档案,档案依法保存。

15. 主管部门审查制度(audits)

实验室应至少依据下列标准每年进行一次审查,审查程序应涉及以下方面:质量监控程序;组织与管理;人员配置;安全制度;样本控制;可靠性确认;分析程序;仪器的校准与维护;熟练性测试;纠错措施;各种档案;复查核对;安全性;以往的审查结果。依照相关法规和审查部门的要求,实验室应保存好有关的文档资料。

16. 安全性(safety)

实验室应具备并遵循明文规定的环境健康和安全性的程序。

附录六 中山医科大学法医物证教研室 19 个 STR 位点等位基因资料

自 1995 年以来,中山医科大学法医物证教研室系统地开展了 STR DNA 分型技术,并广泛地应用到亲子鉴定和个人认定检案工作中。多年来,积累了大量宝贵的资料和经验。通过进一步深入细致地研究,我们发现 STR DNA 分型异常复杂,远不止长度多态性这么简单;另外通过与国外的资料(主要来自于一些文献和国际互联网上数据库资料)对比,我们发现许多中国人群独特的基因组 DNA 序列特征。因此,我们在这里提出:①应注意到 STR 的长度变异以及序列变异;②迅速建立起有中国特色的基因组 DNA 数据库,十分必要。

在此,我们将多年来实践中总结出的一些 STR 位点的资料列出,供国内外同行参考。这些资料还有不完善之处,希望读者能予指出,以便我们进一步做好工作。

附表 1　中国人群 19 个 STR 位点的核心序列

STR 位点	染色体定位	核心序列	等位基因读数
TPOX	2p23 – 2p	[AATG]$_{(7-13)}$	7 ~ 13
D3S1358	3p	TCTA[TCTG]$_{(1-3)}$[TCTA]$_{(9-16)}$	11 ~ 20
FGA	4q28	(1)[TTTC]$_3$ TTTT TTCT[CTTT]$_{(5,8-20)}$CTCC[TTCC]$_2$ (2)[TTTC]$_3$ TTTT TT[CTTT]$_{(14-19)}$ CTCC[TTCC]$_2$	(1)13、16 ~ 29 (2)21.2 ~ 26.2
D5S818	5q21 – q31	[AGAT]$_{(7-14)}$	7 ~ 14
D7S820	7p – 7q	[GATA]$_{(6-15)}$	6 ~ 15
D8S384	8	[TAGA]$_{(5-12)}$	5 ~ 12
D8S1179	8p – 8q	(1)[TCTA]$_{(9-12)}$ (2)[TCTA]$_{(1-2)}$[TCTG]$_{(1-2)}$[TCTA]$_{(11-13)}$	(1)9 ~ 12 (2)13 ~ 17
TH01	11p15 – 15.5	(1)[AATG]$_{(6-14)}$ (2)[AATG]$_6$ATG[AATG]$_3$ (3)[AATG][AACT][AATG]$_8$ATG[AATG]$_3$	(1) 6 ~ 14 (2) 9.3 (3)13.3
D11S554	11p12 – 11p11.2	(1)[AAAG]$_{(2-3)}$[AG]$_{(4,9,11)}$[AAAG]$_{(0,1)}$ gag [AAAG]$_{(13-18,20,21,24)}$ AA [AAAG]$_1$ (2)[AAAG]$_3$[AG]$_4$AAAG gag A AAGG[AAAG]$_5$G [AAAGG]$_{(0,1)}$[AAAG]$_{(15-20)}$[AG]$_{(0,1)}$ (3)[AAAG]$_3$[AG]$_4$AAAG gag A AAGG[AAAG]$_4$ AA[AAAG]$_6$[AAGG]$_{(12-13)}$ AAG[AAAG]$_1$[AG]$_2$	(1)22 ~ 25、27 ~ 31 (2) 29.1 ~ 33.1 (3) 32.2 ~ 33.2
vWA	12p – 12q	(1)TCTA TCTG TCTA [TCTG]$_4$[TCTA]$_3$ TCCA [TCTA]$_3$ (2) TCTA [TCTG]$_{(3-5)}$[TCTA]$_{(7-16)}$[TCCA]$_{(0,1)}$[TCTA]$_{(0,1)}$	(1)14 (2) 11 ~ 21
D12S391	12p – 12q	[AGAT]$_{(8-17)}$[AGAC]$_{(6-10)}$[AGAT]$_{(0-1)}$	15 ~ 27
PLA	12q23 – p	[ATT]$_{(10-16)}$	10 ~ 16
D13S317	13q22 – q31	[TATC]$_{(8-15)}$	8 ~ 15
D13S631	13q31 – 13q32	[ATCT]$_3$ ATC[ATCT]$_{(9-15)}$	12 ~ 18
FES/FPS	15q25 – q	[ATTT]$_{(7-15)}$	7 ~ 15
D16S539	16q22 – 24	[GATA]$_{(8-15)}$	8 ~ 15
D18S51	18q21.3	[AGAA]$_{(10-25)}$	10 ~ 25
D19S253	19p13.1 ~ 19p13	[ATAG]$_{(7-15)}$	7 ~ 15
D20S85	20	(1)AAAG AAAG AGAA AGAA AGAA AG[AAAG]$_{(7-13)}$ (2)AAAG AAAA AGAA AGAG AAAG AG[AAAG]$_6$	(1)7 ~ 13 (2)6

附表 2　其他种族人群与中国汉族人群的核心序列的比较

STR 位点	国外部分种族人群核心序列资料	等位基因读数	中国汉族人群核心序列资料	等位基因读数
TPOX	[AATG]$_{(5\sim14)}$	5～14	[AATG]$_{(7\sim13)}$	7～13
D3S1358	TCTA[TCTG]$_{(1\sim3)}$[TCTA]$_{(10\sim15)}$	12～19	TCTA[TCTG]$_{(1\sim3)}$[TCTA]$_{(9\sim16)}$	11～20
FGA	(1) [TTTC]$_3$ TTTT TTCT[CTTT]$_{(7\sim20)}$CTCC[TTCC]$_2$ (2) [TTTC]$_3$ TTTT TT[CTTT]$_{(9,11\sim21)}$CTCC[TTCC]$_2$ (3) [TTTC]$_4$ TTTT TT[CTTT]$_{(14\sim18)}$[CTTC]$_3$[CTTT]$_3$CTCC[TTCC]$_4$ (4) [TTTC]$_4$ TTTT TT[CTTT]$_{(8,10\sim12,14)}$[CTGT]$_{(3\sim5)}$[CTTT]$_{(11\sim15)}$[CTTC]$_{(3\sim4)}$[CTTT]$_3$CTCC[TTCC]$_4$	(1)15～28 (2)16.2,18.2～28.2 (3) 30.2～34.2 (4) 42.2～50.2 (5) 待发现	(1) [TTTC]$_3$ TTTT TTCT[CTTT]$_{(8\sim21)}$CTCC[TTCC]$_2$ (2) [TTTC]$_3$ TTTT TT[CTTT]$_{(14\sim19)}$CTCC[TTCC]$_2$ (3) 待发现 (4) 待发现 (5) [TTTC]$_3$ TTTT TTCT[CTTT]$_5$CTCC[TTCC]$_2$	(1)16～29 (2)21.2～26.2 (3) 待发现 (4) 待发现 (5) 13
D5S818	[AGAT]$_{(7\sim16)}$	7～16	[AGAT]$_{(7\sim14)}$	7～14
D7S820	[GATA]$_{(5\sim15)}$	5～15	[GATA]$_{(6\sim15)}$	6～15
D8S1179	(1)[TCTA]$_{(7\sim12)}$ (2) [TCTA]$_{(1\sim2)}$[TCTC]$_{(1\sim2)}$[TCTA]$_{(11\sim13,15)}$	(1) 7～12 (2) 13～19	(1) [TCTA]$_{(9\sim12)}$ (2) [TCTA]$_{(1\sim2)}$[TCTG]$_{(1\sim2)}$[TCTA]$_{(11\sim13)}$	(1) 9～12 (2) 13～17
TH01	(1) [AATG]$_{(3\sim14)}$ (2) [AATG]$_{(3,5,6)}$ATG[AATG]$_{(3,4)}$ (3) [AATG][AACT][AATG]$_8$ATG[AATG]$_3$	(1) 3～14 (2) 6.3,8.3,9.3,10.3 (3) 13.3	(1) [AATG]$_{(6\sim14)}$ (2) [AATG]$_6$ATG[AATG]$_3$ (3) [AATG][AACT][AATG]$_8$ATG[AATG]$_3$	(1) 6～14 (2) 9.3 (3) 13.3
D18S54	(1)[AAAG]$_3$[AG]$_{(9,11)}$[AAAG]$_{(0,1)}$gag[AAAG]$_{(13\sim18,20,21,38)}$ AA[AAAG] (1*) [AAAG]$_2$[AG]$_9$[AAAG]gag[AAAG]$_{13}$ AA[AAAG] (1**) [AAAG]$_3$[AG]$_{11}$ gag[AAAG]$_{21}$AA[AAAG] (2) [AAAG]$_3$[AG]$_{14}$ AAAG gag A[AAGG[AAAG]$_5$ G[AAACG]$_{(0,1)}$[AAAG]$_{(15\sim20)}$ AC (2*)[AAAG]$_3$[AG]$_{14}$ AAAG gag A AAGG[AAAG]$_{15}$GAAAGG[AAAG]$_{16}$ AG (3) [AAAG]$_3$[AG]$_4$ AAAG gag A AAGG[AAAG]$_{(4\sim5)}$ AA[AAAG]$_{(6,7,11)}$[AACG]$_{(12\sim15,18)}$ AAG[AAAG]$_4$[AG]$_2$ (4) [AAAC]$_3$[AG]$_{14}$ AAAG gag A AAGG[AAAG]$_{15}$GAAAGG[AAAG]$_{33}$ AG[AAAG]$_2$AG	(1) 23～25,27～31 (1*) 22* (1**) 31** (2) 29.1～35.1 (2*) 30.1* (3) 32.2～36.2,42.2 (3*) 待发现 (3**) 32.2** (4) 29.3	(1) [AAAG]$_3$[AG]$_{(4,9,11)}$[AAAG]$_{(0,1)}$gag[AAAG]$_{(13\sim18,20,21,38)}$ AA[AAAG] (1*) [AAAG]$_3$[AG]$_9$[AAAG]gag[AAAG]$_{12}$ AA[AAAG] (1**) [AAAG]$_3$[AG]$_4$AAAG gag AAAGG[AAAG]$_7$G[AAAG]$_{16}$ AG (2) [AAAG]$_3$[AG]$_{14}$ AAAG gag AAAGG[AAAG]$_5$ G[AAACG]$_{(0,1)}$[AAAG]$_{(15\sim20)}$[AG]$_{(0,1)}$ (2*) [AAAG]$_3$[AG]$_9$ AAAG gag[AAAG]$_{17}$A[AAAG]$_3$AAAAAG (3) [AAAG]$_3$[AG]$_{14}$ AAAG gag A AAGG[AAAG]$_4$ AA[AAAG]$_6$[AACG]$_{(12\sim13)}$ AAG[AAAG]$_{11}$[AG]$_2$ (3*) [AAAG]$_3$[AG]$_4$ AAAG gag A AAGG[AAAG]$_5$GAAACG[AAAG]$_{44}$ (3**) [AAAG]$_3$[AG]$_4$AAAG gag A AAGG[AAAG]$_4$[AAAGG]$_3$[AAAG]$_{17}$ AG	(1) 23～25,27～31 (1*) 22* (1**) 31** (2) 29.1～33.1 (2*) 30.1* (3) 32.2～33.2 (3*) 27.3* (3**) 32.2 (4) 待发现

续附表 2

STR 位点	国外部分种族人群核心序列资料	等位基因读数	中国汉族人群核心序列资料	等位基因读数
vWA	(1) TCTA TCTG TCTA [TCTG]$_4$ [TCTA]$_3$ [TCCA]$_{(0,1)}$ [TCTA]$_{(0,3)}$ (2) TCTA [TCTG]$_{(3-5)}$ [TCTA]$_{(7-17)}$ [TCCA]$_{(0,1)}$ [TCTA]$_{(0,1)}$ (3) TCTA [TCTG]$_4$ [TCTA]$_{15}$ TCCA TCTA (4) [TCTA]$_2$ [TCTG]$_4$ [TCTA]$_3$ TCCA [TCTA]$_3$	(1) 10,14 (2) 11~22 (3) 20 (4) 13	(1) TCTA TCTG TCTA [TCTG]$_4$ [TCTA]$_3$ TCCA [TCTA]$_3$ (2) TCTA [TCTG]$_{(3-5)}$ [TCTA]$_{(7-16)}$ [TCCA]$_{(0,1)}$ [TCTA]$_{(0,1)}$ (3) TCTA [TCTG]$_5$ [TCTA]$_{14}$ TCCA TCTA	(1) 14 (2) 11~21 (3) 20 (4) 待发现
D12S391	(1) [AGAT]$_{12}$ [AGAC]$_6$ [AGAT] (2) [AGAT]$_{11}$ [AGAC]$_9$ (2*) [AGAT]$_{13}$ [AGAC]$_6$ [AGAT] (3) [AGAT]$_{12}$ [AGAC]$_9$ (3*) [AGAT]$_{14}$ [AGAC]$_6$ [AGAT] (4) [AGAT]$_{15}$ [AGAC]$_6$ [AGAT] (4*) [AGAT]$_{12}$ [AGAC]$_{10}$ (5) [ACAT]$_{14}$ [AGAC]$_9$ (5*) [AGAT]$_{14}$ [AGAC]$_8$ [AGAT] (6) [AGAT]$_{15}$ [AGAC]$_9$ (6*) [AGAT]$_{14}$ [AGAC]$_9$ [AGAT] (6**) [AGAT]$_{15}$ [AGAC]$_8$ [AGAT] (7) [ACAT]$_{17}$ [AGAC]$_8$ [AGAT] (7*) [AGAT]$_{17}$ [AGAC]$_9$	(1) 19 (1*) 待发现 (2) 20 (2*) 20* (3) 21 (3*) 21* (4) 22 (4*) 22* (4**) 待发现 (5) 23 (5*) 23* (5**) 待发现 (6) 24 (6*) 24* (6**) 24** (6***) 待发现 (7) 26 (7*) 26* (8) 待发现	(1) [AGAT]$_{11}$ [AGAC]$_7$ [AGAT] (1*) [AGAT]$_{12}$ [AGAC]$_6$ [AGAT] (2) [AGAT]$_{13}$ [AGAC]$_6$ [AGAT] (3) [AGAT]$_{14}$ AGAC]$_6$ [ACAT] (4) [AGAT]$_{13}$ [AGAC]$_9$ (5) [AGAT]$_{14}$ [AGAC]$_9$ (5*) [AGAT]$_{14}$ [AGAC]$_8$ [AGAT] (5**) [AGAT]$_{16}$ [AGAC]$_6$ [ACAT] (6***) [AGAT]$_{14}$ [AGAC]$_{10}$ (7) [AGAT]$_{17}$ [AGAC]$_8$ ACAT (8) [AGAT]$_{17}$ [ACAC]$_9$ [AGAT]	(1) 19 (1*) 19* (2) 20 (2*) 待发现 (3)21 (3*) 待发现 (4)待发现 (4*) 待发现 (4**) 22** (5) 23 (5*) 23* (5**) 3* *(6) 待发现 (6*) 待发现 (6**)待发现 (6***)24*** (7) 26 (7*)待发现 (8) 27
PLA	[ATT]$_{(9-17)}$	9~17	[ATT]$_{(10-16)}$	10~16
D13S317	(1) [TATC]$_{(5-15)}$ (2) [TATC]$_{10}$ AATC	(1) 5~15 (2) 10	[TATC]$_{(8-15)}$	8~15
D13S631	待发现	待发现	[ATCT]$_3$ ATC [ATCT]$_{(9-15)}$	12~18
FES/FPS	[ATTT]$_{(7-15)}$	7~15	[ATTT]$_{(9-15)}$	9~15
D16S539	[GATA]$_{(5-15)}$	5~15	[GATA]$_{(8-15)}$	8~15
D18S51	[AGAA]$_{(7-27)}$	7~27	[AGAA]$_{(10-25)}$	10~25
D20S85	(1) aaag aaag agaa agaa agaa ag [AAAG]$_7$ (2) aaag aaaa agaa agag aaag ag [AAAG]$_7$	(1) 7 (2) 7*	aaag aaag agaa agaa agaa ag [AAAG]$_7$	(1) 7 (2) 待发现

附表 1,2 注:

1. 附表 1 数据取自本实验室资料,调查对象为中国汉族人群,人数为 720 人
2. (a,b,c…… n)形式的脚注表示:在该位点不同编号的等位基因中,该重复单位的重复次数为 a 或 b 或 c……或 n
3. (a~n)形式的脚注表示:在该位点不同编号的等位基因中,该重复单位的重复次数为从 a 至 n 中的某整数值
4. 当读数为 n 的等位基因存在着几种序列形式,在表中分别用符号 n,n*,n**及 n*** 等表示
5. 表中以小写字母表示的序列(在位点 D11S554 和 D20S85 中)在等位基因长度判读时不计算在等位基因长度内
6. "待发现"指该类型的等位基因只在国内或国外有报道,有待补充的资料
7. 国外报道中的一些位点的等位基因范围较广(如 D3S1358 的等位基因范围为 9~19,FGA 的等位基因 17.2,D13S631 位点的所有等位基因),但其中的一部分缺乏详细的序列资料,在此暂时不列入表中
8. 本表中资料日期截至于 2001 年 6 月

附录七　等位基因分型用阶梯的制备

在作 STR 基因分型的实验中，如何正确判断待测样本的基因型是至关重要的。实验一般采用标准的等位基因阶梯同步电泳，就能直观地判断待测标本的基因型。目前等位基因分型用阶梯(allelic specific ladders)可以通过多种途径获得。

1. 先对人群进行全面的群体调查，尽可能发现该群体中某 STR 位点的所有等位基因，将有代表性的个体的样本分别进行重复扩增，再把所有的扩增产物混合在一起进行电泳，就会表现出该位点的等位基因阶梯。再证实这些条带与原来的基因型相同，而且等位基因之间的间隔也符合等位基因之间相差的 bp 数，即可认为这种等位基因阶梯可以在实践中使用。值得注意的是调查的群体人数必须足够，否则会遗漏某些等位基因。

2. 另一种方案是将有代表性的 DNA 样本，经过定量以后，按等量混合的原则，混合在一起作为模板再进行扩增。这些扩增产物即具有该位点所有的等位基因。经过电泳检查证实这些等位基因阶梯与原来各自的电泳条带完全一致，且等位基因之间的间隔也合理，即可使用。

上述 2 种方案都比较简单，容易在普通的实验室做到。但它的缺点是这些等位基因阶梯每次制作的量有限。其等位基因阶梯的条带的清晰度也会受到扩增效果的影响。这时可以采用下面的方案。

3. 用基因重组技术将各个等位基因的扩增产物重组(插入)到某种质粒中，再将质粒转染至大肠杆菌里，利用大肠杆菌内固有的 DNA 复制机制，大量地扩增这些质粒。提纯质粒以后，再用原来使用的限制性内切酶将等位基因片段切出来，提纯后即可以使用。

还有一种方法是，将这些重组质粒提纯以后作为模板，用质粒的通用引物或特殊引物扩增，收集这些扩增片段混合在一块，即成为该位点的等位基因阶梯。

附录八　美国几种人群部分 STR 位点的等位基因频率

附表 3　美国黑人人群 6 个 STR 位点各等位基因频率

Bin	D10S28		D1S7		D2S44		D4S139		D5S110		D17S79	
	Count	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*
1	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000
2	0.	0.0000	0.	0.0000	3.	0.0170	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000
3	1.	0.0057	1.	0.0057	6.	0.0341	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000
4	0.	0.0000	1.	0.0057	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000
5	0.	0.0000	0.	0.0000	4.	0.0227	0.	0.0000	0.	0.0000	1.	0.0067
6	11.	0.0625	1.	0.0057	19.	0.1080	0.	0.0000	2.	0.0123	5.	0.0333
7	11.	0.0625	2.	0.0114	12.	0.0682	0.	0.0000	1.	0.0062	28.	0.1867
8	10.	0.0568	2.	0.0114	10.	0.0568	0.	0.0000	1.	0.0062	28.	0.1867
9	12.	0.0682	3.	0.0170	27.	0.1534	0.	0.0000	4.	0.0247	28.	0.1867
10	10.	0.0568	2.	0.0114	7.	0.0398	0.	0.0000	0.	0.0000	7.	0.0467
11	11.	0.0625	5.	0.0284	17.	0.0966	0.	0.0000	3.	0.0185	16.	0.1067
12	12.	0.0682	2.	0.0114	16.	0.0909	0.	0.0000	13.	0.0802	11.	0.0733

续附表 3

Bin	D10S28		D1S7		D2S44		D4S139		D5S110		D17S79	
	Count	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*
13	14.	0.0795	3.	0.0170	10.	0.0568	9.	0.0511	9.	0.0556	17.	0.1133
14	10.	0.0568	3.	0.0170	9.	0.0511	6.	0.0341	6.	0.0370	1.	0.0067
15	6.	0.0341	5.	0.0284	6.	0.0341	2.	0.0114	5.	0.0309	3.	0.0200
16	11.	0.0625	8.	0.0455	3.	0.0170	4.	0.0227	8.	0.0494	1.	0.0067
17	8.	0.0455	5.	0.0284	5.	0.0284	2.	0.0114	8.	0.0494	1.	0.0067
18	5.	0.0284	7.	0.0398	7.	0.0398	6.	0.0341	13.	0.0802	1.	0.0067
19	10.	0.0568	13.	0.0739	5.	0.0284	13.	0.0739	12.	0.0741	1.	0.0067
20	8.	0.0455	18.	0.1023	5.	0.0284	16.	0.0909	11.	0.0679	1.	0.0067
21	7.	0.0398	8.	0.0455	1.	0.0057	11.	0.0625	7.	0.0432	0.	0.0000
22	7.	0.0398	16.	0.0909	3.	0.0170	14.	0.0795	17.	0.1049	0.	0.0000
23	2.	0.0114	11.	0.0625	0.	0.0000	12.	0.0682	6.	0.0370	0.	0.0000
24	3.	0.0170	12.	0.0682	1.	0.0057	13.	0.0739	5.	0.0309	0.	0.0000
25	1.	0.0057	13.	0.0739	0.	0.0000	24.	0.1364	9.	0.0556	0.	0.0000
26	2.	0.0114	4.	0.0227	0.	0.0000	14.	0.0795	7.	0.0432	0.	0.0000
27	3.	0.0170	4.	0.0227	0.	0.0000	17.	0.0966	6.	0.0370	0.	0.0000
28	1.	0.0057	11.	0.0625	0.	0.0000	7.	0.0398	5.	0.0309	0.	0.0000
29	0.	0.0000	11.	0.0625	0.	0.0000	4.	0.0227	2.	0.0123	0.	0.0000
30	0.	0.0000	5.	0.0284	0.	0.0000	2.	0.0114	2.	0.0123	0.	0.0000
31	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000

Bin 为等位基因编号(按核心序列重复次数分)

附表4　美国白人人群6个STR位点各等位基因频率

Bin	D10S28		D1S7		D2S44		D4S139		D5S110		D17S79	
	Count	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*
1	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000
2	2.	0.0061	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	4.	0.0115
3	3.	0.0091	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	3.	0.0086
4	1.	0.0030	1.	0.0031	2.	0.0061	0.	0.0000	1.	0.0030	1.	0.0029
5	6.	0.0183	0.	0.0000	1.	0.0030	0.	0.0000	0.	0.000	0.	0.0000
6	26.	0.0793	2.	0.0062	2.	0.0061	0.	0.0000	2.	0.000	8.	0.0230
7	9.	0.0274	1.	0.0031	8.	0.0244	0.	0.0000	2.	0.060	6.	0.0172
8	11.	0.0335	1.	0.0031	17.	0.0518	0.	0.0000	1.	0.0030	129.	0.3707
9	31.	0.0945	2.	0.0062	28.	0.0854	0.	0.0000	4.	0.0120	112.	0.3218
10	9.	0.0274	7.	0.0217	32.	0.0976	0.	0.0000	7.	0.0210	9.	0.0467
11	29.	0.0884	2.	0.0062	36.	0.1098	0.	0.0000	6.	0.0180	58.	0.0259
12	11.	0.0335	8.	0.0248	24.	0.0732	0.	0.0000	15.	0.0449	4.	0.1667
13	23.	0.0701	3.	0.0093	31.	0.0945	0.	0.0000	30.	0.0898	8.	0.0115
14	9.	0.0274	10.	0.0311	17.	0.0518	0.	0.0000	24.	0.0719	3.	0.0230
15	11.	0.0335	8.	0.0248	11.	0.0335	2.	0.0031	37.	0.1108	1.	0.0086
16	14.	0.0427	10.	0.0311	11.	0.0335	6.	0.0185	30.	0.0898	2.	0.0029
17	18.	0.0549	5.	0.0155	38.	0.1159	6.	0.0185	35.	0.1048	0.	0.0057
18	12.	0.0366	10.	0.0311	28.	0.0854	6.	0.0185	27.	0.0808	0.	0.0000
19	24.	0.0732	14.	0.0435	22.	0.0671	12.	0.0370	40.	0.1198	0.	0.0000
20	18.	0.0549	29.	0.0901	10.	0.0305	13.	0.0401	36.	0.1078	0.	0.0000
21	34.	0.1037	16.	0.0497	6.	0.0183	14.	0.0432	10.	0.0299	0.	0.0000
22	10.	0.0305	34.	0.1056	1.	0.0030	26.	0.0802	10.	0.0299	0.	0.0000
23	4.	0.0122	18.	0.0559	1.	0.0030	21.	0.0648	4.	0.0120	0.	0.0000
24	11.	0.0335	15.	0.0466	1.	0.0030	29.	0.0895	10.	0.0299	0.	0.0000
25	0.	0.0000	49.	0.1522	1.	0.0030	61.	0.1883	1.	0.0030	0.	0.0000
26	1.	0.0030	15.	0.0466	0.	0.0000	26.	0.0802	0.	0.0000	0.	0.0000
27	0.	0.0000	16.	0.0497	0.	0.0000	28.	0.0864	1.	0.0030	0.	0.0000
28	1.	0.0030	28.	0.0870	0.	0.0000	31.	0.0957	1.	0.0030	0.	0.0000
29	0.	0.0000	15.	0.0466	0.	0.0000	18.	0.0556	0.	0.0000	0.	0.0000
30	0.	0.0000	3.	0.0093	0.	0.0000	26.	0.0802	0.	0.000	0.	0.0000
31	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.000	0.	0.0000

Bin 为等位基因编号(按核心序列重复次数分)

附表 5　美国拉美人人群 6 个 STR 位点各等位基因频率

Bin	D10S28		D1S7		D2S44		D4S139		D5S110		D17S79	
	Count	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*	*Count*	*Freq.*
1	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000
2	1.	0.0038	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	2.	0.0071
3	0.	0.0000	1.	0.0039	2.	0.0077	0.	0.0000	0.	0.000	0.	0.0000
4	1.	0.0038	1.	0.0039	7.	0.0269	0.	0.0000	5.	0.019	0.	0.0000
5	4.	0.0154	0.	0.0000	5.	0.0192	0.	0.0000	4.	0.043	2.	0.0071
6	25.	0.0962	1.	0.0039	6.	0.0231	0.	0.0000	3.	0.107	4.	0.0143
7	7.	0.0269	3.	0.0116	10.	0.0385	1.	0.0000	1.	0.0036	11.	0.0393
8	18.	0.0692	4.	0.0155	36.	0.1385	0.	0.0039	4.	0.0143	76.	0.2714
9	26.	0.1000	4.	0.0155	28.	0.1077	0.	0.0000	4.	0.0143	65.	0.2321
10	13.	0.0500	0.	0.0000	27.	0.1038	0.	0.0000	4.	0.0143	10.	0.0357
11	45.	0.1731	4.	0.0155	27.	0.1038	0.	0.0000	7.	0.0250	30.	0.1071
12	11.	0.0423	2.	0.0078	11.	0.0423	0.	0.0000	20.	0.0714	69.	0.2464
13	23.	0.0885	8.	0.0310	9.	0.0346	0.	0.0000	11	0.0393	6.	0.0214
14	7.	0.0269	4.	0.0155	10.	0.0385	1.	0.0039	13.	0.046	2.	0.0071
15	13.	0.0500	12.	0.0465	6.	0.0231	0.	0.0000	18.	0.0643	3.	0.0107
16	4.	0.0154	6.	0.0233	28.	0.1077	5.	0.0194	24.	0.0857	0.	0.0000
17	7.	0.0269	9.	0.0349	19.	0.0731	1.	0.0039	25.	0.0893	0.	0.0000
18	5.	0.0192	14.	0.0543	11.	0.0423	4.	0.0155	22.	0.0786	0.	0.0000
19	15.	0.0577	22.	0.0853	11.	0.0423	8.	0.0310	25.	0.0893	0.	0.0000
20	14.	0.0538	29.	0.1124	3.	0.0115	4.	0.0155	25.	0.0893	0.	0.0000
21	13.	0.0500	18.	0.0698	0.	0.0000	9.	0.0349	14.	0.0500	0.	0.0000
22	2.	0.0077	22.	0.0853	1.	0.0038	24.	0.0930	25.	0.0893	0.	0.0000
23	2.	0.0077	24.	0.0930	1.	0.0038	26.	0.1008	10.	0.0357	0.	0.0000
24	3.	0.0115	12.	0.0465	1.	0.0038	35.	0.1357	4.	0.0143	0.	0.0000
25	0.	0.0000	18.	0.0698	1.	0.0038	42.	0.1628	5.	0.0179	0.	0.0000
26	1.	0.0038	11.	0.0426	0.	0.0000	28.	0.1085	3.	0.0107	0.	0.0000
27	0.	0.0000	11.	0.0426	0.	0.0000	31.	0.1202	2.	0.0071	0.	0.0000
28	0.	0.0000	10.	0.0388	0.	0.0000	18.	0.0698	2.	0.0071	0.	0.0000
29	0.	0.0000	4.	0.0155	0.	0.0000	10.	0.0388	0.	0.0000	0.	0.0000
30	0.	0.0000	4.	0.0155	0.	0.0000	11.	0.0426	0.	0.0000	0.	0.0000
31	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000	0.	0.0000

Bin 为等位基因编号（按核心序列重复次数分）

附表 6　美国黑人人群 9 个 STR 位点等位基因频率分布表

Allele	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820
	N = 98	N = 98	N = 96	N = 98	N = 98	N = 98	N = 98	N = 98	N = 98
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.015
8	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.046	0.046	0.204
9	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.005	0.005	0.036	0.138
10	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.005	0.067	0.010	0.281
11	0.005	0.000	0.000	0.046	0.000	0.015	0.236	0.316	0.296
12	0.000	0.000	0.000	0.107	0.000	0.046	0.379	0.372	0.051
13	0.005	0.036	0.000	0.224	0.000	0.046	0.231	0.168	0.015
13.2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000
14	0.087	0.046	0.000	0.291	0.000	0.092	0.021	0.051	0.000
15	0.308	0.219	0.000	0.194	0.000	0.108	0.010	0.000	0.000
16	0.292	0.291	0.000	0.071	0.000	0.246	0.000	0.000	0.000
17	0.241	0.194	0.000	0.015	0.000	0.169	0.000	0.00	0.000
18	0.056	0.133	0.015	0.010	0.000	0.103	0.000	0.000	0.000
19	0.005	0.051	0.067	0.000	0.000	0.062	0.000	0.000	0.000
19.2	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
20	0.000	0.026	0.046	0.000	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000
21	0.000	0.005	0.139	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000
22	0.000	0.000	0.155	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000
22.2	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
23	0.000	0.000	0.232	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
24	0.000	0.000	0.149	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	0.000	0.000	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	0.000	0.000	0.057	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
27	0.000	0.000	0.015	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000
28	0.000	0.000	0.015	0.000	0.231	0.000	0.000	0.000	0.000
29	0.000	0.000	0.010	0.000	0.256	0.000	0.000	0.000	0.000
30	0.000	0.000	0.000	0.000	0.174	0.000	0.000	0.000	0.000
30.2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.000
31	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067	0.000	0.000	0.000	0.000
31.2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.051	0.000	0.000	0.000	0.000
32	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000
32.2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000
33	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
33.2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000
34	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000
35	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000

Allele 为等位基因编号(按核心序列重复次数分),N 为该位点所检测的样本数