

• 论 著 •

129 例急性白血病患者免疫表型特点分析

吴丽娟¹, 刘霞², 赵文利³, 帖儒修⁴

(成都军区总医院:1. 检验科;2. 体检中心;3. 儿科 610083;4. 第三军医大学大坪医院检验科, 重庆 400042)

摘要:目的 了解急性白血病患者肿瘤抗原表达特点,为急性白血病免疫分型诊断提供科学依据。方法 利用四色流式细胞学检验技术,以 CD45/SSC 双参数散点图设门法,测定 129 例急性白血病患者瘤细胞的抗原表达。结果 129 例急性白血病中,cMPO 在 AML 高表达,在 ALL 无表达。cCD79a 和 cCD22 在 B-ALL 高表达,在 AML 和 T-ALL 无表达。cCD3 和 cTCRαβ 在 T-ALL 高表达,在 AML 和 B-ALL 无表达。CD34 是急性白血病患者肿瘤细胞低分化阶段的判断指标。CD64 和 CD14 是单核细胞系诊断的重要指标,在 M₄ 和 M₅ 高表达。CD41 和 CD61 在 M₇ 高表达。流式免疫分型和形态学检查诊断急性白血病的总符合率 96.1%。**结论** 急性白血病患者肿瘤细胞免疫表型具有规律性,异常的抗原表达是瘤细胞诊断的依据,残存的正常抗原表达是急性白血病分类诊断的依据。瘤细胞绝对数量上的多寡不影响疾病的诊断,却是疾病疗效和复发的判断指标。流式白血病免疫分型在形态不典型白血病、跨系表达白血病及混合型白血病的诊断中具有独到优点。

关键词:白血病; 细胞系,肿瘤; 免疫表型分型; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.02.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)02-0132-04

Analysis of the immunophenotypic features of 129 patients with acute leukemia

Wu Lijuan¹, Liu Xia², Zhao Wenli³, Tie Ruxiu⁴

(1. Department of Medical Laboratory; 2. Medical Examination Center; 3. Department of Pediatrics, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China; 4. Department of Medical Laboratory, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To investigate the characteristics of tumor antigen expression on neoplastic cells from patients with acute leukemia. **Methods** Immunophenotyping was performed by four-color flow cytometry with CD45/SSC gating for neoplastic cells from 129 patients with acute leukemia. **Results** Among the 129 patients, cMPO was highly expressed in AML, but not in ALL, cCD79a and cCD22 were highly expressed in B-ALL, but not in AML and T-ALL, and cCD3 and cTCRαβ were strongly expressed in T-ALL, but not in AML and B-ALL. CD34 was a significant marker for the lower differential stage of neoplastic cells. CD64 and CD14 were overexpressed in M₄ and M₅, and could be used as diagnostic markers for monocytic lineage. CD41 and CD61 were highly expressed in M₇. The total coincidence rate was 96.1% between immunophenotyping and traditional morphological phenotyping. **Conclusion** The immunophenotypes of neoplastic cells in acute leukemia display significant patterns. The abnormal expression of tumor antigen could be specific marker for neoplastic cells, and the expression of normal antigen could be used for categorization of acute leukemia. The absolute number of neoplastic cells might be an index of therapeutic effect and disease recurrence. Immunophenotyping by flow cytometry could have its unique advantages for the diagnosis of morphological non-typical leukemia, leukemia with cross-lineage antigen expression and leukemia with mixed lineages.

Key words: leukemia; cell line, tumor; immunophenotyping; flow cytometry

世界卫生组织白血病诊断标准要求白血病的诊断方法是细胞形态学、免疫学和细胞遗传学的实验室诊断、临床症状、体征的联合诊断法^[1]。其中,白血病免疫学诊断是指通过一系列荧光标记的单克隆抗体对患者来源的骨髓或外周血细胞标本进行荧光染色,进而采用流式细胞仪对标本细胞荧光染色信号进行测定,达到对细胞表面及细胞质内一系列抗原标志表达的测定,最终通过细胞呈现出来的抗原表型特点对标本中是否存在白血病细胞、白血病细胞属于何种血液细胞系列及其亚类作出判断的一种白血病实验诊断方法,也称白血病免疫分型或白血病免疫分型诊断^[2]。本文采用四色流式细胞学检验技术,以 CD45/SSC 设门,对急性白血病患者肿瘤细胞相关抗原表达进行测定,总结急性白血病患者肿瘤细胞相关抗原表达变化特点,获得急性白血病免疫表型特征的相关信息,为进一步提高急性白血病免疫分型诊断的准确性提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 129 例骨髓标本来自 2008 年 1 月至 2011 年 2 月西南地区三所大型综合性三甲医院血液科住院患者,男 62

例,女 67 例,年龄 3~79 岁,其中急性髓系白血病(AML)90 例,急性 B 淋巴细胞性白血病(B-ALL)37 例,急性 T 淋巴细胞性白血病(T-ALL)2 例。所有标本都同时进行了细胞形态学检查、细胞化学染色分析,符合世界卫生组织 FAB 诊断标准^[1]。

1.2 标本及处理 全部患者于化疗前,严格按照无菌操作规程,取患者髂后上棘骨髓 2~3 mL,EDTA-Na₂ 抗凝管盛放,混匀后送检验科。检验科收到标本后,先对标本有核细胞总数和活细胞率进行测定,然后向剩余标本中加入 PBS 10 mL 混匀,1 000 r/min 离心 5 min 去上清,继续同法洗涤细胞 2 次,最后用 PBS 调细胞浓度至 5×10⁹/L。

1.3 方法

1.3.1 标本有核细胞总数测定 采用全自动血细胞计数仪分析法,使用日本 Sysmex XT-800i 及其配套试剂计数标本的有核细胞总数。

1.3.2 标本细胞存活率测定 采用 PI 染色-流式细胞仪分析法,使用美国 Beckman-Coulter XL4 流式细胞仪及其配套基础

试剂进行测定。PI 染色液配制见参考文献[3]。具体检测方法:取干净流式试管 1 支,加入骨髓标本 50 μ L,PI 染色液 1 mL,轻轻混匀。置于冰箱冷藏室(4 $^{\circ}$ C)静置染色 30 min,取出混匀后上机测定。用于流式分析的骨髓标本是对活细胞进行的分析,要求死亡细胞尽量少,一般不超过 2%~3%。

1.3.3 流式细胞免疫表型测定 采用四色-流式细胞学检验分析法。全部荧光标记单克隆抗体(见表 1)、破膜剂、溶血剂均购自美国 Beckman-Coulter 公司。膜抗原测定时,取流式专用试管若干支,编号后先加入单抗各 10 μ L,再加入细胞标本 50 μ L,轻轻混匀后室温避光静置染色 30 min 或加盖后 4 $^{\circ}$ C 冰箱冷藏室过夜染色。染色反应完成后,加入溶血剂 A 液 625 μ L,漩涡器振荡混匀 10 s;加入 B 液 265 μ L,漩涡器振荡混匀

10 s;加入 C 液 100 μ L,漩涡器振荡混匀 10 s。此时立即上机测定或在 2 d 内完成测定,未及时测定时,冰箱 4 $^{\circ}$ C 冷藏保存。细胞内抗原如 cMPO、cCD79a 等测定时,取流式专用管若干编号,加入 CD45 抗体各 10 μ L,再加入细胞标本 50 μ L,室温,避光,静置染色 20 min;加入破膜剂 Reagent I 100 μ L 混匀,室温静置 10 min,加入 10 mL 的 PBS,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清。向细胞沉淀中加入破膜剂 Reagent II 100 μ L 重悬细胞,混匀后将细胞小心转入事先加好荧光标记抗体各 10 μ L 的流式专用管中,室温静置 30 min,加入 10 mL 的 PBS,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清;加入溶血剂 C 液 800 μ L 重悬细胞。此时立即上机测定或在 2 d 内完成测定,不能及时测定应同样将试管放入冰箱 4 $^{\circ}$ C 冷藏保存。

表 1 白血病流式免疫分型的抗体组合设计

管号	FL1; FITC	FL2; PE	FL3; ECD	FL4; PC5	意义
1	cIgG1	cIgG1	CD45	cIgG1	胞内抗原测定的阴性对照
2	cMPO	cCD79a	CD45	cCD3	胞内抗原测定,系列区分
3	cCD22	cTCR $\alpha\beta$	CD45	—	T/B 细胞
4	IgG1	IgG1	CD45	IgG1	膜抗原测定的阴性对照
5	HLA-DR	CD34	CD45	CD117	干/幼稚细胞区分
6	CD33	CD14	CD45	CD64	粒系和单核区分
7	CD7	CD10	CD45	CD19	T/B 区分及成熟度了解
8	CD13	CD11c	CD45	CD16	髓系成熟度了解
9	CD4	CD8	CD45	CD3	T 细胞亚群
10	CD2	CD56	CD45	CD16	NK 和 LGL
11	CD65	CD15	CD45	—	髓系细胞
12	CD20	CD5	CD45	—	B/T 细胞
13	CD41	CD61	CD45	—	巨核细胞/血小板

CD45-ECD 为细胞分群标志,用于与 SSC 一起对细胞群作散点图。—:无数据。

1.4 统计学处理 相关数据用 Microsoft Office Excel 2003 软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 129 例急性白血病流式免疫分型 129 例急性白血病中,AML 90 例(69.8%),B-ALL 37 例(28.7%),T-ALL 2 例(1.6%),流式免疫分型结果见表 2。胞浆髓过氧化物酶(cMPO)在急性髓系白血病 M₀~M₁ 的瘤细胞内均有高表达,在 M₅ 的瘤细胞中只有部分表达,M₆ 和 M₇ 因病例数量不足尚不能下结论,在 B-ALL 和 T-ALL 瘤细胞内无表达。cCD79a 在 B-ALL 瘤细胞内高表达,在 AML 和 T-ALL 瘤细胞中无表达。cCD22 在 B-ALL 瘤细胞内微弱表达,在 AML 和 T-ALL 瘤细

胞中无表达。cTCR $\alpha\beta$ 在 T-ALL 瘤细胞中高表达,在 AML 和 B-ALL 瘤细胞中无表达。cCD3 在 T-ALL 瘤细胞中高表达,在 AML 瘤细胞中几乎无表达,在 B-ALL 瘤细胞中无表达。CD34 在 M₀~M₂ 均有高表达,伴随 AML 瘤细胞处于发育分化的相对成熟阶段 CD34 表达强度逐步降低。在 B-ALL 和 T-ALL 中,瘤细胞 CD34 高表达。CD13 在 AML 瘤细胞中较高表达,在 ALL 中无表达。CD33 在 AML 瘤细胞中高表达,在 B-ALL 瘤细胞中有相当一部分存在微弱表达。CD64 和 CD14 在 M₁ 和 M₅ 瘤细胞有较高水平表达。CD41 和 CD61 在 M₇ 瘤细胞有高水平表达,在 M₀~M₆ 以及 T-ALL 无表达。

表 2 129 例急性白血病流式免疫表型分析的抗原表达率(%)

分组	AML								B-ALL (n=37)	T-ALL (n=2)
	M ₀ (n=2)	M ₁ (n=13)	M ₂ (n=39)	M ₃ (n=14)	M ₄ (n=9)	M ₅ (n=11)	M ₆ (n=1)	M ₇ (n=1)		
cMPO	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	45.5	0.0	0.0	0.0	0.0
CD34	100.0	100.0	94.9	71.4	44.4	27.3	0.0	0.0	89.2	100.0
HLA-DR	100.0	76.9	69.2	50.0	55.6	54.5	100.0	100.0	94.6	50.0
CD13	100.0	76.9	64.1	85.7	88.9	81.8	0.0	100.0	0.0	0.0
CD33	100.0	92.3	89.7	92.9	100.0	90.9	100.0	100.0	13.5	0.0

续表 2 129 例急性白血病流式免疫表型分析的抗原表达率 (%)

分组	AML								B-ALL (n=37)	T-ALL (n=2)
	M ₀ (n=2)	M ₁ (n=13)	M ₂ (n=39)	M ₃ (n=14)	M ₄ (n=9)	M ₅ (n=11)	M ₆ (n=1)	M ₇ (n=1)		
CD117	50.0	76.9	82.1	50.0	88.9	54.5	100.0	0.0	5.4	0.0
CD65	50.0	76.9	79.5	64.3	77.8	81.8	100.0	0.0	0.0	0.0
CD64	0.0	15.4	20.5	28.6	88.9	81.8	0.0	0.0	8.1	50.0
CD16	0.0	0.0	10.3	7.1	22.2	63.4	0.0	0.0	0.0	0.0
CD15	0.0	15.4	12.8	42.9	55.6	54.5	100.0	0.0	2.7	0.0
CD14	0.0	7.7	10.3	35.7	88.9	81.8	0.0	0.0	2.7	0.0
CD11c	0.0	0.0	5.1	14.3	66.7	72.7	0.0	0.0	5.4	0.0
CD41	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	2.7	0.0
CD61	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
cCD79a	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
cCD22	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
CD10	0.0	0.0	0.0	0.0	11.1	9.1	0.0	0.0	40.5	50.0
CD19	0.0	0.0	0.0	0.0	11.1	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
CD20	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.1	0.0	0.0	70.3	0.0
cCD3	0.0	0.0	0.0	7.1	11.1	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
cTCRαβ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
CD2	0.0	0.0	7.7	14.3	33.3	18.2	0.0	0.0	5.4	100.0
CD3	0.0	7.7	0.0	7.1	11.1	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0
CD4	0.0	0.0	15.4	28.6	22.2	18.2	0.0	0.0	2.7	0.0
CD5	0.0	7.7	7.7	7.1	11.1	9.1	0.0	0.0	0.0	100.0
CD7	0.0	15.4	12.8	21.4	11.1	9.1	0.0	0.0	2.7	100.0
CD8	0.0	0.0	7.7	7.1	0.0	9.1	0.0	0.0	0.0	50.0

2.2 129 例急性白血病流式免疫分型与 FAB 分型的比较

FAB 分型确定的 129 例急性白血病中,流式共计有 5 例与 FAB 分型不符合或不完全符合。FAB 分型确定的 1 例 B-ALL,流式分析后被确定为 AML-M₁;FAB 分型确定的 1 例 AML-M₃,流式分型被确定为 AML-M₁;FAB 确定的 2 例 B-ALL,流式 1 例确定为 B-ALL 伴 AML-M₁,1 例确定为髓系和 B 系急性白血病伴 T 系异常;另有 1 例 FAB 分型确定的 AML-M₅,流式分型为 AML-M₅ 伴 B-ALL。FAB 分型和流式分型的总符合率为 96.1%。

3 讨 论

流式白血病免疫分型是流式细胞学检验技术临床应用的主要领域之一,是 WHO 有关血液系统恶性疾病诊断标准的主要内容,在欧美发达国家已经成为临床血液系统肿瘤诊断与疗效监测不可缺少的依据^[2,4]。流式白血病免疫分型诊断的意义在于^[1]:通过对标本细胞表面及其细胞内部某些蛋白质表达的测定,鉴别标本中是否存在表达明显异常的细胞,即标本中有无异常细胞(多指瘤细胞);鉴定所分析异常细胞的谱系来源;判断异常细胞所处的分化(成熟)阶段;详细记录异常细胞群反映蛋白质表达量多与少的对应荧光信号强度和异常细胞占总分析细胞的百分比;评价所记录信息对疾病诊断的有效性。若流式检测结果尚不能明确诊断,应提供临床进一步明确诊断的方法和建,如荧光原位杂交(FISH)及分子诊断等;提供一些可能对临床治疗方案确立、调整及预后判断有效的免疫

表型信息。流式白血病免疫分型关于异常细胞的判断是指瘤细胞的蛋白质表达与正常系列相应细胞比较出现了紊乱,可以是局限在某一细胞系列蛋白质表达的紊乱(“小乱”),也可以是多细胞系列蛋白质表达的紊乱(“中乱”),甚至是已经无法区分出细胞系列的蛋白质表达紊乱(“大乱”)。瘤细胞蛋白质表达紊乱具体表现为该有的蛋白质表达减少了或缺失了、该弱表达的蛋白质高表达了以及不该有的蛋白质表达了等多种情况。

流式免疫分型在使用的具体分型策略上,根据不同流式细胞仪自身能够检测的荧光通道数量,使用多色抗体组合对标本细胞进行染色,抗体与标本直接混合后孵育 20~30 min 即可上机测定。可见,流式免疫分型效率高,1 次实验可以对瘤细胞上的多种、甚至 10 种以上抗原标志进行检测,操作简便、快捷。流式免疫表型测定全程仪器自动分析,排除了人为因素对结果产生影响,且 1 份标本分析细胞数量在数万、甚至数十万以上,方法准确、可靠,结果重复性好。细胞免疫组化与流式免疫分型完全不同,虽然都是基于抗原抗体结合反应对抗原表达的测定,但是细胞免疫组化需要制备细胞薄片,然后再进行免疫染色和显色反应,最终依靠人工显微镜镜检读片来判断有无靶蛋白的表达。细胞免疫组化每做 1 次实验,使用 1 种抗体,检测效率极低,且方法学假阳性多,人工镜检判断结果受主观因素影响,结果可比性和重复性较差,准确性相对低^[5]。因此,流式免疫分型开展后已经逐渐取代了免疫组化方法。FISH 是另外 1 种白血病分型技术,它采用荧光标记的单链 DNA 探

针与涂片上标本细胞中的互补 DNA 进行杂交结合,然后在荧光显微镜下观察标本涂片上发出的荧光信号,对瘤细胞染色体数目及其结构异常进行诊断,即对核型进行诊断。FISH 不能取代 MIC,但能够使 MIC 分型更为准确和深入,尤其是近年多色 FISH(M-FISH,也称 multiplex FISH)的应用,极大提高了 FISH 检测白血病核型的效率,并在疑有未被发现的微小染色体易位和具有复杂异常核型的染色体异位(普通方法很难获得完全的染色体核型)白血病诊断中显示出独到的优点,是白血病 MIC 诊断的有益补充^[6]。

流式白血病免疫分型不仅用于临床白血病及其亚类的诊断,还可以借助免疫分型的结果作为患者疗效监测时残留白血病瘤细胞判断的参考指标,在白血病微小残留(MRD)监测中具有重要意义^[7]。

本文调查结果显示,cMPO、cCD79a、cCD3(或 cTCR $\alpha\beta$)是瘤细胞大类鉴别的重要依据,这些抗原具有表达量高、细胞类别代表特异的特点,是急性白血病免疫分型中首先需要考虑的抗体组合。CD34 是判断白血病瘤细胞是否处于分化的最低幼稚阶段和临床判断预后的指标,CD34 表达越高,说明瘤细胞分化程度越低,换句话说就是越幼稚,患者预后就越差。对于 AML,利用 CD34、CD117、CD11b、CD16、CD35 和 CD10 基本上可以锁定瘤细胞所处的分化阶段;CD13、CD33、CD15、CD65、CD64 都是判断 AML 的重要指标;CD14 和 CD64 在诊断 M₄ 和 M₅ 中的价值最大,其中 CD14 诊断单核细胞的特异性强于 CD64,后者不仅表达于单核细胞,也偶表达于某些中性粒细胞;CD41 和 CD61 主要用于 M₇ 的诊断。对于 B-ALL,cCD79a、cCD22 和 CD19 是瘤细胞 B 细胞来源最具代表性的指标,利用 CD34、CD10、CD38、IgD 和 IgM 即可锁定瘤细胞所处的分化阶段。T-ALL 在中国较为少见,CD3、TCR $\alpha\beta$ 、CD2、CD5、CD7 都是很好的类别鉴别指标,利用 CD34、TdT、CD5、CD4 或 CD8、CD3 或 TCR 即可锁定瘤细胞所处分化阶段。但是,AML 时有 CD2、CD5、CD7 等 T 细胞抗原标志的表达。上述 ALL 瘤细胞特点与文献报道基本一致^[2,4,7-8]。

流式白血病免疫分型在技术上应当注意,分析对象是活细胞,标本应新鲜,尽量减少死细胞的荧光抗体非特异性吸附对检测结果造成的干扰;标本应尽量使用 EDTA 抗凝(紫头管),细胞形态保存最好,膜抗原稳定利于检测;标本量适当,切勿贪多超过紫头真空采血管抗凝的有效范围,同时注意及时颠倒试管数次,使标本与抗凝剂充分混匀,有凝块的标本不能用于检验,必须退回;如果是骨髓标本也可以用肝素抗凝,其优点是抗凝能力强,但对细胞形态有一定影响。荧光染色反应完成后,建议尽量使用本文采取的全血细胞裂解液法(试剂配制见文献^[3]),该法分三个步骤,操作环节较氯化铵溶血法繁琐,但是由于 C 液中含有低浓度多聚甲醛,其固定作用使溶血体系内细胞稳定,细胞形态学保持较好,如果将测定管 4℃ 避光保存(如放于冰箱冷藏室),可以在 3 d 内随时复测使用,结果稳定。在上机测定过程中,建议在 CD45/SSC 散点图上对不同群细胞都要设门并用不同的颜色将它们区别开来,随后编辑的一系列抗原表达测定散点图均不与 CD45/SSC 散点图上的任何细胞群设门进行关联,这样就可以通过细胞群颜色的不同纵观全部细胞群各靶抗原的表达特点,理论上避免漏诊那些只有少数瘤细胞混杂在大量正常细胞中的病例。报告时,应尽量全面报告各细胞系表达是否有明显异常;对于异常表达细胞群,无论该异常细胞群在全部有核细胞中所占比例的多或者少,都应报道全部靶抗原的表达情况,包括表达某靶抗原的百分数和表达强度

(平均荧光强度,MnX 值)。表达强度可以用强表达(+)、弱表达(±)和无表达(-)的描述方式加以报告,这对于瘤细胞成熟阶段的判断十分重要,也利于某些瘤细胞系列类型的判断。另外,利用 CD45/SSC 散点图可以记录各群细胞的比例,各群细胞在全部有核细胞中所占比例也是报告应该体现的内容。

最后,白血病免疫分型只是白血病实验室诊断的方法之一,其优点是通过对细胞表面及其内部的一系列抗原成分的鉴别,能够较形态学肉眼观察法更加客观、准确地描述瘤细胞的特点,但是缺乏形态学检查的直观性。因此,送验白血病免疫分型标本时,应将形态学检查结果及临床表现与体征信息同时在申请单上提供实验室,使实验室有个初步印象,但是并不等于可以根据形态学检查结果随意删减抗体组合,因为形态学对于跨系表达的白血病瘤细胞是无法诊断的。同时,使用完整的抗体组合测定,也能保证对那些以某个系列细胞异常为主伴少许其他系列异常的白血病,那些同时存在 2 个或 2 个以上系列细胞异常的混合型白血病,以及形态学不典型白血病的诊断,这些少见或疑难白血病的诊断恰恰是形态学诊断的不能解决的。

值得注意的是,白血病瘤细胞的形态学和免疫学标志是千变万化、因个体而异的,临床时常遇到形态学和免疫学分型都难下诊断的病例,此时需要增加 FISH 对瘤细胞核型进行检测和增加 PCR 对瘤细胞白血病基因进行检测,再结合临床综合诊断。极少数时候,一些形态学和免疫学分型都典型的病例,其细胞遗传学诊断却与形态学和免疫学分型结果不一致,这是临床遇到某个白血病患者经过一段时期治疗后发现其白血病类型与既往诊断不一致的原因。

总之,急性白血病瘤细胞免疫表型是有规律性的,异常的抗原表达是瘤细胞诊断的依据,残存的正常抗原表达是急性白血病分类诊断的依据。瘤细胞绝对数量上的多寡不影响疾病的诊断,却是疾病疗效和复发的判断指标。

参考文献

- [1] Steven HS, Elias C, Nancy LH, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues[J]. 4th edition, 2008, WHO Press, World Health Organization; 14-36.
- [2] Peters JM, Ansari MQ. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia[J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(1): 44-54.
- [3] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京:人民军医出版社, 2010:308.
- [4] Okada Y. Flow cytometry—the basis of cell surface analysis and clinical application[J]. Rinsho Byori, 2010, 58(11): 1121-1130.
- [5] Teruya-Feldstein J. The immunohistochemistry laboratory: looking at molecules and preparing for tomorrow[J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(11): 1659-1665.
- [6] Kearney L. Multiplex-FISH (M-FISH): technique, developments and applications[J]. Cytogenet Genome Res, 2006, 114(3-4): 189-198.
- [7] Diguseppe JA. Acute lymphoblastic leukemia; diagnosis and detection of minimal residual disease following therapy[J]. Clin Lab Med, 2007, 27: 533.
- [8] 王雪华, 林少微, 焦晓阳, 等. 儿童与成人急性 B 淋巴细胞白血病的免疫分型特点[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 954-956.