

· 论 著 ·

异常免疫表型模式在急性髓系白血病微小残留检测中的应用*

母 璐,叶远馨,应斌武[△]

(四川大学华西医院实验医学科,四川成都 610041)

摘要:目的 用多参数流式细胞术区分急性髓性白血病细胞与正常骨髓原始细胞免疫表型,建立急性髓系白血病细胞异常免疫表型模式和流式细胞术检测急性白血病微小残留病的方法。方法 选择正常骨髓标本和急性髓性白血病患者骨髓标本,用流式细胞术分析髓系原始细胞免疫表型特征。并将标记抗原用于分析初发白血病细胞免疫表型,以寻找急性髓系白血病细胞异常免疫表型模式和确定用于微小残留病检测的抗体组合,更好地提示患者复发情况。并将流式细胞术结果、骨髓细胞形态学结果和 PCR 融合基因检测结果进行比较。**结果** 分析 20 例非恶性血液系统恶性疾病的骨髓标本中髓系原始细胞的免疫表型,CD117 阳性髓系原始细胞占 $2.51\% \pm 0.84\%$,CD34 阳性髓系原始细胞占 $1.21\% \pm 0.83\%$,均有特定免疫表型特征。检测 346 例非早幼粒细胞白血病的急性髓性白血病患者免疫表型特征,异常免疫表型有 314 例,占 90.80%,其中跨系表达抗原主要包括 CD7(31.21%)、CD56(23.70%)、CD19(13.87%),跨阶段共表达的抗原包括 CD34/CD64(2.89%)、CD14/CD117(1.16%),抗原表达强度变化或抗原缺失主要包括原始粒细胞不表达 HLA-DR(4.62%)、CD13(7.51%)或 CD33(12.14%),以及单核细胞不表达 CD14(5.20%)。早幼粒细胞白血病患者 31 例,有异常免疫表型的仅占 16.7%,低于非早幼粒细胞白血病的急性髓性白血病。根据白血病异常免疫表型模式,与 PCR 结果符合度高,能很好地提示白血病进展。**结论** 急性髓性白血病细胞具有明显不同于正常来源原始细胞的异常免疫表型特征,适合采用流式细胞术进行微小残留病检测,并能反映体内白血病细胞负荷和病情变化。

关键词:流式细胞术; 免疫表型; 急性髓性白血病; 微小残留病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.02.021

文章编号:1673-4130(2020)02-0213-05

中图法分类号:R733.71

文献标识码:A

Detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia by aberrant immunophenotype*

MU Can, YE Yuanxin, YING Binwu[△]

(Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan University Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective The immunophenotypes of acute myeloid leukemia cells and normal bone marrow primordial cells were distinguished by multiparameter flow cytometry. The abnormal immunophenotype pattern of acute myeloid leukemia cells was established and the flow cytometry was used to detect minimal residual disease of acute leukemia. **Methods** The immunophenotypic characteristics of myeloid primordial cells were analyzed by flow cytometry. In order to find out the abnormal immunophenotype pattern of acute myeloid leukemia cells and to determine the antibody combination for detection of minimal residual disease, we also used the marker antigen to analyze the immunophenotype of primary leukemia cells. The results of flow cytometry, morphology of bone marrow cells and PCR fusion gene were compared. **Results** The immunophenotype of myeloid primordial cells in bone marrow of 20 patients with non hematologic malignancies was analyzed. CD117 positive myeloid cells accounted for $2.51\% \pm 0.84\%$, CD34 positive myeloid cells accounted for $1.21\% \pm 0.83\%$, all of which had specific immunophenotypic characteristics. Aberrant immunophenotype were found in 314 of 346 AML(90.80%), acute promyelocytic leukemia excluded). Main immunophenotypes

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81672095);中国科学技术部国家科技重大专项(2018ZX10715003-001);四川大学-攀枝花市科技合作专项资金项目(2018CDPZH-13)。

作者简介:母璐,女,医师,主要从事分子生物学研究。 △ 通信作者,E-mail:binwuying@126.com。

本文引用格式:母璐,叶远馨,应斌武.异常免疫表型模式在急性髓系白血病微小残留检测中的应用[J].国际检验医学杂志,2020,41(2):213-217.

of lineage cross-expressing included CD7(31.21%), CD56(23.70%) and CD19(13.87%). Cross-stage expressing antigen included CD34/CD64(2.89%), CD14/CD117(1.16%). Antigen intensity change or deficiency mainly included HLA-DR(4.62%), CD13(7.51%), CD33(12.14%) and CD14 on monocytic leukemia(5.20%). In 31 cases of promyelocytic leukemia, only 16.7% had abnormal immunophenotype, which was lower than that of non promyelocytic leukemia. According to the abnormal immunophenotypic pattern of leukemia, it is highly consistent with PCR results, which can well indicate the progression of leukemia.

Conclusion Acute myeloid leukemia cells have abnormal immunophenotypic characteristics which are different from those of normal primordial cells. It is suitable to detect minimal residual disease by flow cytometry, and it can reflect the load of leukemia cells and the change of disease condition in vivo.

Key words: flow cytometry; immunophenotype; acute myeloid leukemia; minimal residual disease

急性髓系白血病是髓系造血干/祖细胞克隆性恶性增殖的血液系统疾病,以髓系原始细胞和幼稚细胞的恶性增殖为主要特征。虽然其临床缓解率可达80%以上^[1],但仅30%~40%的年轻患者和不及20%的老年患者能达到长期无病生存^[2-4]。复发仍是困扰白血病治愈的一个难点。而形态学方法评价疗效及预后存在不足,治疗后达到完全缓解的患者中很多人会在不同时间间隔后复发。此时微小残留病(MRD)检测的出现为解决这一临床问题提供了可能性。MRD是指白血病患者经诱导化疗或骨髓移植获得形态学完全缓解后体内仍残存的形态学上不能检测到的少量白血病细胞。随着技术的进步,MRD检测方法呈现多样化,检测的灵敏度也不断提高^[5]。MRD检测有利于更早地预测白血病的复发,指导白血病的临床治疗,根据体内白血病细胞多少以决定是继续化疗抑或停止治疗;有利于较早发现白血病细胞是否耐药,并依此指导临床选用更灵敏、更具杀伤力的治疗措施^[6];有助于评价骨髓移植后的缓解率及自体造血干细胞移植的净化效果^[7]。

部分白血病通过PCR技术检测特定基因异常来检测MRD^[8]。因此,PCR技术对于急性白血病MRD检测具有一定意义。但部分急性髓系白血病目前本身尚不能检测到基因异常^[9],并且对每一位初诊的急性白血病患者均要筛选出特定基因异常其成本较高。因此,建立流式细胞术检测急性白血病患者MRD的方法仍是必要的。

本研究旨在采用流式细胞术对正常骨髓髓系原始细胞和急性髓系白血病细胞免疫表型进行分析,探讨急性髓系白血病细胞异常免疫表型模式和用于MRD检测的抗体组合,建立以多色流式细胞术检测急性髓系白血病MRD的方法,并探讨其对疾病复发监测的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 实验对象为四川大学华西医院2017年6月至2018年6月就诊的患者。其中初诊时确诊为急性髓系白血病患者346例,初诊时已进行全面免

疫表型分析且临床已明确急性白血病亚型,在行诱导化疗后及巩固化疗长期随访监测过程中可抽取骨髓标本进行MRD检测的患者58例,非恶性血液系统疾病患者20例。采用肝素钠抗凝真空采血管收集患者新鲜骨髓标本,按照荧光抗体试剂配套的操作说明书标记、处理、检测所需抗原。所有急性髓系白血病患者诊断、分类标准参照《WHO造血和淋巴组织肿瘤分类》(2016版)。完全缓解标准参照《血液病诊断及疗效标准》。

1.2 仪器与试剂 荧光标记的单克隆抗体试剂均购自美国BD公司。除此之外还使用了BD公司穿孔素、磷酸盐缓冲液(PBS)、氯化铵溶血剂。本实验采用BD FACSCanto II流式细胞仪、低速离心机、BD Diva流式分析软件。

1.3 方法 本研究检测了20例非恶性血液系统疾病患者骨髓标本中髓系原始细胞的免疫表型(相关抗原标记包括CD2、CD5、CD7、CD13、CD15、CD19、CD33、CD34、CD38、CD117、CD56、CD14、CD64、HLA-DR),以建立正常髓系原始细胞免疫表型模式。收集346例初诊急性髓系白血病患者骨髓标本,分析白血病细胞异常免疫表型,包括:(1)抗原跨系表达;(2)跨阶段表达;(3)过度表达及缺失表达。收集58例MRD患者骨髓标本,分析其残留情况。对于急性髓系白血病患者,评估的抗体组合主要包括:CD15/CD13/CD33/CD34/CD45, CD56/CD117/CD38/CD34/CD45, CD7/CD117/CD19/CD34/CD45, CD2/CD117/CD5/CD45, CD64/CD117/CD14/CD34/HLA-DR/CD45。组合方式可以视初诊时免疫表型而定。对于流式细胞术MRD检测结果阳性而细胞形态学阴性的患者(尚在诱导化疗期的患者除外),观察其后期临床缓解和复发情况。

1.4 统计学处理 统计软件采用SPSS17.0,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料以率表示,各类抗体表达之间的比较分析采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

2 结 果

2.1 正常骨髓的髓系原始细胞免疫表型 在CD45/

SSC 散点图上,20 例非恶性血液系统疾病患者骨髓标本中原始细胞区细胞主要为 CD117 阳性髓系原始细胞,其在有核细胞中所占比例为 2.51%±0.84%,这类 CD117 阳性原始细胞共表达抗原阳性率如下:CD64⁺ 为 11.2%±6.80%,CD7⁺ 为 2.7%±3.50%,CD19⁺ 为 0.11%±0.13%,CD5⁺ 为 0.08%±0.09%,HLA-DR⁺ 为 90.61%±8.77%,CD14⁺ 为 0.09%±0.11%。还有部分原始细胞区细胞为 CD34 阳性髓系原始细胞,其在有核细胞中所占比例为 1.21%±0.83%,这类 CD34 阳性原始细胞共表达抗原阳性率如下:CD13⁺/CD33⁺ 为 72.6%±11.80%,CD13⁺/CD33⁻ 为 22.3%±13.90%,CD56⁺ 为 1.31%±1.08%,CD64⁺ 为 0.16%±0.09%,HLA-DR⁻ 为 0.11%±0.08%,CD15⁺ 为 1.4%±0.10%,CD38⁺ 为 97.2%±4.50%。

对于单核细胞,主要观察了 CD13/CD33、CD14/CD64 的表达,单核细胞群中 CD13⁺/CD33⁺、CD14⁺/CD64⁺ 细胞分别占单核细胞的 99.08%±1.32% 和 97.75%±1.71%。

2.2 急性髓系白血病细胞免疫分型 本研究分析了 346 例急性髓系白血病的白血病细胞免疫表型[急性早幼粒细胞白血病(APL)除外],出现异常免疫表型的有 314 例(占 90.8%)。在本研究所涉及的抗原标志物中,跨系表达有 5 类,抗原表达强度变化或缺失有 7 类,跨阶段表达有 3 类。各类抗原异常表达在急性髓系白血病中出现的阳性率见表 1。

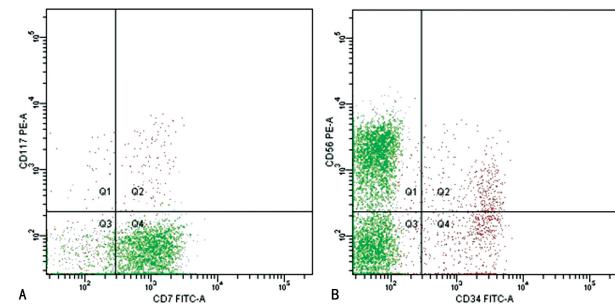
表 1 急性髓系白血病抗原异常表达及其阳性率

项目	异常抗原表达	n	阳性率(%)
跨系表达	CD117 ⁺ /CD7 ⁺	63	18.21
	CD56 ⁺ /CD84 ⁺	82	23.70
	CD19 ⁺ /CD117 ⁺	48	13.87
	CD5 ⁺ /CD117 ⁺	6	1.73
	CD2 ⁺ /CD117 ⁺	3	0.86
抗原表达强度变化或缺失	CD13 ⁺ /CD33 ⁻	21	6.06
	CD13 ⁻ /CD33 ⁺	26	7.51
	CD34 ⁺ /CD38 ⁻	16	4.62
	CD34 ⁻ /HLA-DR ⁺ /CD117 ⁺	20	5.78
	CD34 ⁺ /CD38 ⁻	34	9.83
	CD45 ⁺⁻	12	3.47
	CD64 ⁺ /CD14 ⁻ (单核细胞)	18	5.20
跨阶段表达	CD34 ⁺ /CD64 ⁺	10	2.89
	CD34 ⁺ /CD15 ⁺	14	4.04
	CD117 ⁺ /CD14 ⁺	4	1.16

在表 1 中,急性髓系白血病常见异常免疫表型为 CD7⁺/CD117⁺ 和 CD34⁺/CD56⁺。其散点图见图 1。以成熟淋巴细胞为参照,原始细胞分别出现在图 1A 和图 1B 的 Q2 象限中,为异常原始细胞,两者均为抗

原跨系表达。

2.3 急性髓系白血病 MRD 检测 研究对象中 58 例急性髓系白血病患者共进行了 173 次 MRD 检测,与骨髓细胞形态学分析相比较,采用 χ^2 检验对结果进行分析, $\chi^2=24.735, P=0.00$ 。细胞形态学原始细胞比例>5%而流式细胞术为阴性的 2 次结果中,原始细胞免疫表型均无明显异常,临床亦无明显复发的证据。流式细胞术阳性结果中原始细胞比例>5%的有 36 次,其中 2 次形态学结论为阴性;原始细胞比例<5%的有 41 次,其中 30 次形态学结论为阴性。



注:红色表示髓系原始细胞;绿色表示成熟淋巴细胞。

图 1 急性髓系白血病常见异常免疫表型
CD7⁺/CD117⁺ 及 CD34⁺/CD56⁺

2.4 临床观察 在 1 年观察期内,流式细胞术检测 MRD 阳性而细胞形态学阴性的患者复发率为 69.23%(18/26);流式细胞术及细胞形态学均为阴性的患者复发率为 15.63%(5/32),明显低于流式细胞术检测 MRD 阳性病例。

2.5 分子生物学结果比较 在上述 173 次 MRD 检测中有 73 次进行了流式细胞术、PCR 融合基因检测,且初诊时两者均为阳性,其中 APL 22 例,非 APL 51 例。有 65 例 2 种检测结果一致,占 89.04%(65/73),具体分析见表 2。有 8 例两者结果不一致的情况,其中+/-组合 1 例为 APL, -/+ 组合中 7 例均为 APL。

表 2 急性髓系白血病流式细胞术 MRD 和 PCR
结果患者符合例数比较(n)

流式细胞术	PCR	
	+	-
+	12	1
-	7	53

3 讨 论

急性白血病恶性克隆细胞抗原的表达具有很大的异质性。急性髓系白血病的流式细胞术诊断有赖于原始细胞比例的明显增加和克隆性白血病细胞的异常免疫表型特征作为依据^[10]。本实验对比分析正常骨髓髓系原始细胞和白血病细胞上的多种免疫表型,以提高对原始细胞的分辨率,并发现不同于正常

细胞的肿瘤性原始细胞群,即免疫表型模式分析。

随着相关文献的报道,人们对各类抗原分子的认识也在不断更新。CD117 是急性髓系白血病相对较特异的免疫标志物,在急性髓系白血病-M0/M1/M2/M4 中均可表达^[11]。CD34 亦可作为髓系原始细胞标记,但其表达范围不及 CD117 广泛,主要见于早期髓系原始细胞,并需注意排除 B 祖细胞干扰,当患者出现耐药时 CD34 表达水平升高^[12]。CD13、CD33、CD38 在早期髓系原始细胞即可出现。CD15、CD64 主要表达于较成熟的粒细胞和单核细胞,在早幼粒细胞和原幼单核细胞亦可部分表达,但在原始粒细胞中少见表达。CD14 是较特异的单核细胞标志物,表达于成熟单核细胞,亦存在极少量幼稚单核细胞。CD117 少量表达于幼稚单核细胞^[11],不表达于成熟单核细胞。CD7 的表达范围较广,正常情况下可表达于极早期的髓系原始细胞,其表达程度随细胞发育逐渐减弱。CD56 抗原是一种神经细胞黏附分子,在血液肿瘤及实体肿瘤中均可表达^[13]。正常骨髓中难以见到表达 CD2、CD5 或 CD19 的髓系原始细胞。

对于本研究关注的 3 类抗原表达异常中,白血病性原始细胞跨系表达是较常见的一种异常免疫表型特征。急性髓系白血病常见的跨系表达是 T 淋巴细胞的抗原标志 CD7 和 B 淋巴细胞抗原标志 CD19。CD56 亦是急性髓系白血病常见的抗原标志,但其作为跨系表达的意义不及 CD7 和 CD19,因为化疗后增生的正常原始粒细胞亦可见 CD56 表达。白血病细胞另一异常特征是出现原始细胞抗原和后期较成熟细胞抗原共表达。本研究中 CD15 是急性髓系白血病中最常见的与原始细胞抗原共表达的抗原标志。CD64、CD14 与原始细胞标志共表达的发生率均较低。除此之外,白血病细胞抗原表达强度也可表现出与其发育阶段不相符合的情况。CD13、CD33、CD38、HLA-DR 均可发生表达强度变化。而 CD13、CD33 因为在正常原始细胞亦为部分表达,故在 MRD 检测时可能难以明确区分少量 CD13/CD33 表达异常的白血病细胞和混杂的正常原始细胞。对于抗原表达强度变化的正确判断还有赖于标本处理过程的一致性和仪器状态、参数设置的稳定性。

白血病细胞异常表达的抗原不仅在初发的白血病细胞中可以检测到,而且在治疗后达到形态学完全缓解时,残存的白血病细胞多数仍保留其初发时的抗原异常表达^[14],这保证了流式细胞术检测白血病 MRD 的临床实用性。本研究结果显示,选择合适的免疫表型模式进行分析,可为临床急性髓系白血病病例提供较准确的 MRD 检测结果。流式细胞术方法与细胞形态学相比,流式细胞术 MRD 检测结果阳性率明显提高,且检测结果与患者临床进展相一致,流式

MRD 阳性者复发率较高,预后较差,被证明是儿童急性髓系白血病在诱导和巩固治疗期间复发的一个有效的独立预后指标^[15],与 PCR 结果符合度为 89.04%,这显示流式细胞术检测结果亦具有较高的灵敏度。但 APL 除外,绝大多数 APL 有 PML/RAR α 融合基因异常,且异常免疫表型出现率低于非 APL 患者,故应以 PCR 作为其 MRD 检测的首选方法。同一种抗原采用不同颜色荧光标记的检测效率可能存在差异,但因本实验室采用的抗体荧光颜色相对固定,在此没有进一步探讨。本文选取的研究对象为四川大学华西医院就诊患者,由于实验对象的局限性,需要进一步扩大样本量和研究区域来验证本文实验结果。

4 结 论

急性髓系白血病具有明显不同于正常来源原始细胞的异常免疫表型特征,适合于采用流式细胞术进行白血病 MRD 检测。当残留的白血病细胞 > 5% 时,骨髓细胞形态学和流式细胞术结果吻合度高,流式细胞术可以作为前者的补充;但当残留的白血病细胞 < 5% 时,使用流式细胞术 MRD 检测方法具有较高的灵敏度,在考虑患者的经济状况情况下,流式细胞术是检测 MRD 的重要手段。并且和分子生物学结果吻合度高(APL 患者除外),能更准确地反映体内白血病细胞负荷和病情变化,提示患者复发风险,指导临床治疗方案调整。

参考文献

- [1] DINNER S, LIEDTKE M. Antibody-based therapies in patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2018(1): 9-15.
- [2] SUCIU S, MANDELLI F, DE WITTE T, et al. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMA-MAAML-10 trial[J]. Blood, 2003, 102(4): 1232-1240.
- [3] BUCCISANO F, MAURILLO L, DEL PRINCIPE M I, et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2012, 119(2): 332-341.
- [4] GRIMWADE D, VYAS P, FREEMAN S. Assessment of minimal residual disease in acute myeloid leukemia[J]. Curr Opin Oncol, 2010, 22(6): 656-663.
- [5] 李舒心,常英军,魏辉.急性髓系白血病微小残留病研究现状及展望[J].中华血液学杂志,2019,40(1): 83-86.
- [6] 任欣,赵婷,王婧,等.微小残留病在成人急性髓系白血病非预后良好型患者中的预后价值[J].中华血液学杂志,2017,38(7): 578-585.

(下转第 220 页)

测^[15]。本研究发现了1例IgG型抗-M引起的HDN。

Duffy血型系统共有6个抗原,该系统抗体主要是通过输血或妊娠免疫产生,多数为抗-Fya,少数为抗-Fyb,是IgG类抗体,多数抗Fya引起的HDN临床症状较轻。本研究发现了1例母亲(G3P3)血型B型,患儿血型O型的抗-Fya引起的HDN。

不同性别和血型的HDN检出率有差异,对于可疑的HDN患者,应尽早进行检测,可以提高检出率。释放试验是诊断ABO-HDN的金指标,一旦阳性即可确诊。因本实验室只对非ABO-HDN合并直抗阳性者才做不规则抗体筛查检测,故在实际中如存在不规则抗体而直抗未呈阳性者,可能对其他血型系统引起的HDN漏检。在条件允许的情况下,实验室应配备多种谱细胞或用更灵敏的方法来检测抗体,在检测血型时就进行不规则抗体筛查,这样可以避免抗体漏检造成HDN类型诊断错误,便于早期治疗,促进新生儿康复。

4 结 论

应尽早对可疑HDN患者进行检测,不断规范实验室操作和提高专业技术能力,给医生提供快速准确的临床决策,更好地服务于医院和社会。

参考文献

- [1] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 128-129.
- [2] 王卫平. 儿科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 120-123.
- [3] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 139-143.

(上接第216页)

- [7] 卢岳, 吴彤, 王卉, 等. 预处理前多参数流式细胞术监测的微小残留病对急性髓系白血病异基因造血干细胞移植预后的影响[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(2): 118-123.
- [8] VARDIMAN J W, THIELE J, ARBER D A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. Blood, 2009, 114(5): 937-951.
- [9] STREHL S, KÖNIG M, MANN G, et al. Multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction screening in childhood acute myeloblastic leukemia[J]. Blood, 2001, 97(3): 805-808.
- [10] PETERS J M, ANSARI M Q. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia[J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(1): 44-54.
- [11] MORTAZA R, ALI R N, BABAK N, et al. Role of CD135/CD117 on prognosis and overall survival of acute myeloid leukemia[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2019, 20

- [4] 崔若帅, 刘洋, 马春娅, 等. 疑似新生儿溶血病血清学检测情况对比观察[J]. 人民军医, 2018, 61(3): 249-252.
- [5] 聂峰, 杜喆. 新生儿溶血病阳性检出率的差异分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2017, 42(4): 505-507.
- [6] 吴淑华, 苗锐. 150例高胆红素血症新生儿溶血三项检测及相关影响因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(9): 1134-1137.
- [7] 詹洁瑜, 舒琳琳, 颜思璐, 等. 新生儿溶血病Rh血型分布与临床分析[J]. 中国医学创新, 2017, 14(17): 113-117.
- [8] 杨璇, 陈富臻, 洪强. 501例新生儿溶血病筛查结果分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(1): 192-196.
- [9] GEOFF DANIELS. Human blood groups[M]. 3rd edition. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd., Publication, 2013: 35.
- [10] 安万新. 输血技术学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2006: 29.
- [11] 段灵, 胡红兵. 3256例高胆红素血症新生儿溶血病血清学检测结果分析[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(10): 754-756.
- [12] 夏世勤, 周晓璐, 王竹英, 等. 156例新生儿溶血病患儿血清学检测结果及相关因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(1): 22-24.
- [13] 胡丽华. 临床输血学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 256-257.
- [14] 刘曦, 范亮峰, 郑皆炜, 等. 306例不规则抗体致新生儿溶血病回顾性研究[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(11): 1261-1264.
- [15] 张印则, 徐华, 周华友. 红细胞血型原理与检测策略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 221-222.

(收稿日期:2019-05-14 修回日期:2019-09-27)

(9): 2625-2631.

- [12] YIAU S K, LEE C, MOHD TOHIT E R, et al. Potential CD34 signaling through phosphorylated-BAD in chemotherapy-resistant acute myeloid leukemia[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2019, 39(3): 276-282.
- [13] EL DEMELLAWEY D, NASR A, ALOWAMI S. Application of CD56, P63 and CK19 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid[J]. Diagn Pathol, 2008, 3(1): 1-12.
- [14] WARD M S. The use of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of malignant hematological disorders[J]. Pathology, 2009, 31(4): 382-392.
- [15] BULDINI B, MAURER M M, VAROTTO E, et al. Flow cytometric monitoring of minimal residual disease in pediatric patients with acute myeloid leukemia: recent advances and future strategies[J]. Front Pediatr, 2019, 7: 412.

(收稿日期:2019-06-22 修回日期:2019-10-21)