

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.09.018

急性 B 淋巴细胞白血病儿童化疗后微小残留病灶免疫表型改变的分析 *

张 晰^{1,3} 张 卓² 段明玥³ 张艳敏³ 王军阳^{1Δ}

(1 西安交通大学基础医学院病原生物学与免疫学系 陕西 西安 710061; 2 空军军医大学唐都医院 陕西 西安 710003;

3 西安交通大学附属儿童医院 西安市儿童医院 陕西 西安 710003)

摘要 目的:分析儿童急性 B 淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)化疗过程中首次微小残留病灶(minimal residual disease, MRD)免疫表型的变化规律及特点,为临床诊断及后续微小残留病的监测提供依据。**方法:**回顾性分析我院 2013 年 1 月至 2018 年 4 月收治的 393 例 B-ALL 患儿的免疫分型结果及诱导化疗第 15 天首次 MRD 数据。**结果:**(1)在 393 例白血病中, B-ALL 相关特征性免疫表型的出现频率为: CD19+/CD10+/34+64.4%; CD19+/CD10+/34 部分表达, 15.5%; CD19+/CD34+/CD20+, 58.5%; CD19+/CD10+/CD13+, 13.2%; CD19+/CD10+/CD33+, 5.9%; CD19+/CD10+/CD117+, 0.7%; CD19+/CD10+/CD123+, 50.1%; CD19+/CD10-/34±, 5.9%; CD19+/CD10-/CD20-, 2.5%; CD34^{bright}, 12.2%; (2)共有 285 例首次 MRD 检测结果呈阳性, 有 181 例(63.5%)MRD 检测结果至少有 1 个抗原荧光强度发生改变, 其中出现一个抗原强度变化的为 83 例(29.1%), 2 个抗原荧光强度变化的为 57 例(20.0%), 3 个抗原荧光强度变化为 31 例(10.9%), 4 个及 4 个以上抗原荧光强度变化为 10 例(3.5%)。抗原荧光强度变化频率最高的依次为 CD45、CD34、CD20; (3)共有 7 例患儿复发, 复发时行免疫分型检测, 其中 4 例与初发时有抗原荧光强度变化。**结论:**(1)儿童 B-ALL 远高于其他白血病类型, 且具有独特的相关特征性免疫表型。初发 B-ALL 免疫分型结果不仅可完善白血病 MICM 分型, 更是化疗后 MRD 监测的线索及客观依据; (2)在儿童 B-ALL 化疗过程中, 免疫表型极有可能发生变化, 在后续的微小残留病灶检测过程中应注意对变化抗原的判断和追踪。

关键词:流式细胞术; 急性 B 淋巴细胞白血病; 儿童; 微小残留病; 免疫表型

中图分类号:R733.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)09-1687-05

Analysis of Immunophenotype Changes of Minimal Residual Disease in children with Acute B Lymphoblastic Leukemia after Chemotherapy*

ZHANG Xi^{1,3}, ZHANG Zhuo², DUAN Ming-yue³, ZHANG Yan-min³, WANG Jun-yang^{1Δ}

(1 Department of Pathogenic Biology and Immunology, School of Basic Medical Sciences, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China; 2 Tangdu Hospital of The Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an, Shaanxi, 710003, China;

3 Children's Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710003, China)

ABSTRACT Objective: To review the flow immunophenotype results of the first minimal residual disease (minimal residual disease, MRD) of 393 children with B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL), and compare with the results of immunophenotyping at the initial diagnosis. Analyze the surface antigen changes occurring in the B-ALL chemotherapy phase of the MRD, in order to understand the feature and changing characteristics of children's B-ALL immunophenotype and to provide evidence for clinical diagnosis and follow-up monitoring of MRD. **Methods:** A retrospective analysis of the immunophenotyping results and the first MRD data of induction chemotherapy for fifteenth days of 393 patients with B-ALL in our hospital from January 2013 to April 2018 was performed. **Results:** (1) in 393 cases of B-ALL, the frequency of leukaemia related immunophenotype (characterization of leukemia-associated immunotyping, LAIP) were: CD19+/CD10+/34+, 64.4%; CD19+/CD10+/34 partial expression, 15.5%; CD19+/CD34+/CD20+, 58.5%; CD19+/CD10+/CD13+, 13.2%; CD19+/CD10+/CD33+, 5.9%; CD10+/CD117+, 0.7%; CD19+/CD10+/CD123+, 50.1%; CD19+/CD10-/34±, 5.9%; CD19+/CD10-/CD20-, 2.5%; CD34^{bright}, 12.2%; (2) A total of 285 first MRD tests were positive, 181 (63.5%) MRD detected at least 1 antigen fluorescence intensity changes, of which 1 antigen intensity change was 83 cases (29.1%), 2 antigen fluorescence intensity changes were 57 cases (20%), 3 antigen fluorescence intensity changes were 31 cases (10.9%), 4 and more than 4 antigen fluorescence intensity changes were 10 cases (3.5%). The highest frequency of antigen fluorescence intensity was CD45, CD34 and CD20. (3) A total of 7 children were recrudescence, of which 4 cases of antigen fluorescence intensity change compared with the initial stage. **Conclusion:** (1) children's B-ALL is much higher than other types of leukemia, and has a unique characteristic phenotype. The results of initial B-ALL immunophenotype can not only improve the MICM classification of leukemia, but also provide clues and objective evidence for MRD

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(83100928)

作者简介:张晰(1986-), 硕士研究生, 主要研究方向:免疫学, E-mail: 345169679@qq.com

Δ 通讯作者:王军阳(1970-), 博士生导师, 教授, 主要研究方向:免疫学, E-mail: jywang@mail.xjtu.edu.cn, 电话: 029-82655182

(收稿日期:2018-10-10 接受日期:2018-10-31)

monitoring after chemotherapy. (2) Immunophenotype changes are most likely to occur during B-ALL treatment in children, and careful judgment and tracking should be made in the subsequent detection process of MRD.

Key words: Flow cytometry; Acute B lymphoblastic leukemia; Children; Minimal residual disease; Immunophenotype

Chinese Library Classification(CLC): R733.71 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)09-1687-05

前言

B-ALL 是儿童恶性肿瘤性疾病中最常见的类型,不仅严重危害健康,也给患儿家庭及社会造成巨大负担。随着医学的进步,儿童急性白血病的预后得到了极大的改善,针对高、中、低危不同分组的联合化疗更使治疗后 5 年无事件生存率可达 80 %^[1,2]。但少数患儿虽然在骨髓形态学上可达完全缓解,在后续治疗过程中仍会复发^[3]。大量临床研究表明化疗过程中 MRD 水平与患儿的长期无事件生存率(event-free survival, EFS)和复发密切相关^[4]。因此,动态监测患儿化疗过程中不同时期 MRD 直接影响到制定化疗方案、监测复发甚至判断预后^[5,6]。经过化疗的患儿 MRD 表型在抗原的表达和强度上都可能出现不同程度的改变,化疗后儿童急性 B 淋巴细胞白血病微小残留病灶免疫表型改变的分析就显得尤为重要。本研究主要分析了儿童急性 B 淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)化疗过程中首次微小残留病灶(minimal residual disease, MRD)免疫表型的变化规律及特点,以期临床诊断及后续微小残留病的监测提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择我院 2013 年 1 月至 2018 年 4 月收治的 393 例 B-ALL 患者,均经 MICM 分型法确诊。其中,男 232 例,女 161 例,年龄 1~14 岁,中位年龄 7.5 岁。上述患儿初诊时均采用流式细胞术免疫分型,确诊后按 CCLG-ALL-2008 方案分组治疗,并在治疗第 15 天采集骨髓行流式细胞术 MRD 测定。收集患儿的免疫分型及诱导化疗第 15 天的首次 MRD 检测结果。

1.2 主要仪器及试剂

四色多参数 FACS Calibur 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)、所用单克隆抗体为美国 BD 公司产品,按照试剂说明书进行操作。

1.3 实验方法

患儿抽取乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝骨髓 2~4 mL,常规分离有核细胞。用 FACS Calibur 型流式细胞仪进行检测,应用 Cell Quest Pro 软件,以 CD45/SSC 设门,获取细胞并分析结果。

1.3.1 免疫分型检测 所有初诊 ALL,以 CD10、CD34、CD19、CD7、CD117、CD33、CD38、CD71、CD13、CD11b、CD16、CD15、CD14、CD4、CD64、CD36、CD163、HLA-DR、CD66、CD58、CD123、CD20、CD22、sIgM、cCD79、cCD3、MPO 抗体标记有核细胞,筛选具特征性免疫表型的肿瘤细胞。用设逻辑门的方法在双参数散点图上标记出在细胞比例和免疫表型上区别于正常骨髓细胞的异常细胞群(白血病细胞群),并记录其抗原表达特点,如是否出现跨系表达、抗原时序表达混乱(同时表达不同时期的抗原)、分化阻滞、抗原表达缺失或强度异常等。

1.3.2 MRD 检测 根据 B-ALL 患者的肿瘤细胞的抗原表达特点选择相对应的荧光抗体组合^[7],以 $MRD \geq 10^{-4}$ 为阳性, $MRD < 10^{-4}$ 为阴性, $MRD \geq 10^{-4}$ 为复发^[8,9]。检测获取并分析 80-100 万个细胞,记录诱导化疗第 15 天首次 MRD 数据及化疗后免疫表型的变化^[10]。

1.4 统计学分析

计量资料用中位数表示,计数资料用百分比表示,组间比较采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 白血病相关免疫表型(characterization of leukemia-associated immunotyping, LAIP)

白血病细胞相关免疫表型^[11,12]是肿瘤细胞明显区别于正常原始细胞的一些特征:出现跨系表达,如 B 系细胞表达髓系抗原;抗原时序表达混乱,如一个细胞同时表达早期和晚期抗原;抗原表达缺失或强度异常,如应当表达的正常抗原缺失、表达过弱或过表达^[13]。

儿童 B-ALL 的 LAIP 特征相对多且分散,发生频率由高至低依次为抗原时序表达混乱型、跨系表达型、抗原表达缺失或强度异常型。没有一个 LAIP 特征的发生频率能覆盖全部的儿童 B-ALL 达到 100 %,发生频率最高的为抗原时序表达混乱型 CD19+/CD10+/34+ 高达 64.4 %,发生频率最低的为抗原跨系表达型 CD19+/CD10+/117+ 为 0.7 %,但所有抗原跨系表达型频率总和高达 69.9 %。儿童 B-ALL 的 LAIP 特征并无明显规律可循,但在众多 LAIP 特征中每例儿童 B-ALL 均能表现出至少一个 LAIP 特征,且多数患儿表现出两个及两个以上的 LAIP 特征。393 例 B-ALL 主要 LAIP 分布见表 1。

2.2 MRD 与初发时免疫表型比较

393 例患儿中,有 285 例诱导化疗 15 天后首次 MRD 检测结果呈阳性,其中 181 例(63.5 %)MRD 检测结果至少有 1 个抗原荧光强度出现不同程度的改变。CD45、CD20 抗原荧光强度呈升高改变,CD34、CD10 则降低,初发时免疫分型与首次 MRD 抗原荧光强度变化对比见图 1。出现 1 个抗原荧光强度变化的为 83 例 (29.1 %),2 个抗原荧光强度变化的为 57 例 (20.0 %),3 个抗原荧光强度变化为 31 例 (10.9 %),4 个及以上抗原荧光强度变化为 10 例(3.5 %)。抗原荧光强度变化频率最高的依次为 CD45、CD34、CD20,抗原荧光强度变化频率见表 2。

2.3 复发时免疫表型的改变

共有 7 例患儿在复发时行免疫分型检测,其中 4 例与初发时相比较有抗原荧光强度变化。

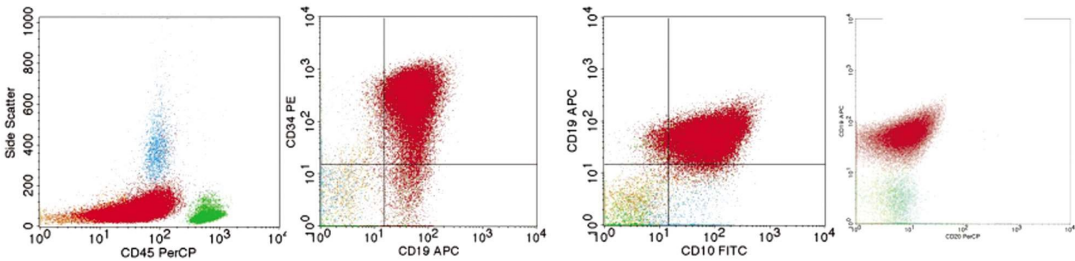
3 讨论

在儿童 B-ALL 化疗过程中,MRD 的免疫表型极有可能发

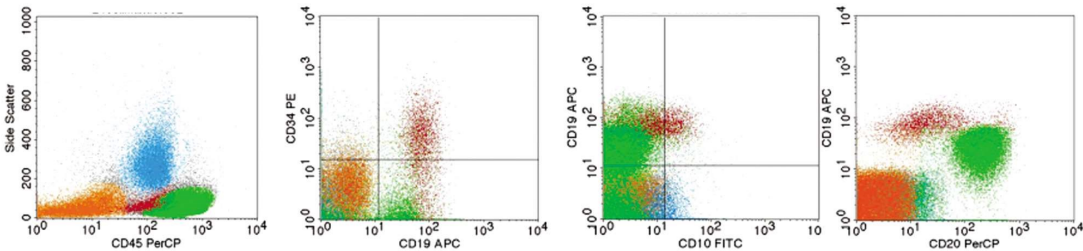
表 1 393 例 B-ALL 主要 LAIP 分布特点

Table 1 The main LAIP distribution characteristics of 393 cases of B-ALL

LAIP classification	Immune markers	Frequency(%)
Chaotic expression of time sequence	CD19+/CD10+/34+	64.4 %
	CD19+/CD10+/34 ^{Partial expression}	15.5 %
	CD19+/CD34+/CD20+	58.5 %
	CD19+/CD10+/CD13+	13.2 %
Antigen cross system expression	CD19+/CD10+/CD33+	5.9 %
	CD19+/CD10+/CD117+	0.7 %
	CD19+/CD10+/CD123+	50.1 %
	CD19+/CD10-/34±	5.9 %
Antigen deletion or overexpression	CD19+/CD10-/CD20-	2.5 %
	34 ^{bright}	12.2 %



Scatter plot of flow immunophenotype



Scatter plot of frist MRD

图 1 初发时免疫分型与初次 MRD 抗原荧光强度变化散点图比较

Fig.1 Comparison of antibody fluorescence intensity changes

Notes: Figure 1 is a comparison of the first diagnosis and the first MRD Immunophenotype scatter plots of a same child. The fluorescence intensity of CD45 and CD20 antigens increased, while that of CD34 and CD10 antigens decreased. The fluorescence intensity of CD19 antigen remained unchanged.

表 2 MRD 抗原荧光强度变化频率

Table 2 Frequency of antigen fluorescence intensity of MRD

Immune markers	Rise (Times)	Reduction(Times)	Total [Times(%)]
CD10	0	49	49 (27.1 %)
CD19	3	2	5 (2.8 %)
CD34	0	81	81 (44.8 %)
CD45	97	0	97 (53.6 %)
CD38	1	6	7 (3.9 %)
CD22	6	3	9 (5.0 %)
CD20	75	0	75 (41.4 %)

生变化,出现免疫表型调节(Immunophenotypic modulation,IM)^[14], IM 是影响 FCM 准确分析的重要因素。初诊时的设门方案不一

定适用于后续的 MRD 监测, 在检测过程中应加以注意及判断。对于出现免疫表型调节的患儿,检测者在制定抗体组合时

不能仅仅参考初诊时的免疫分型结果,应当考虑到化疗后抗原表型的改变,以免目标抗原表达的改变(表达降低甚至不表达)造成假阴性结果。出现 IM 的原因可能如下:(1)化疗药物对肿瘤细胞的直接的作用:CD10、CD34 抗原治疗后较常出现表达减低甚至缺失,可能与易受药物影响有关,本实验室在工作中发现在用糖皮质激素治疗 B-ALL 的过程中,多数患儿 CD10 的抗原表达在化疗后的第 15 天即首次 MRD 检测时出现下降,抗原表达改变与药物的高度相关性也有文章报道过^[15,16]。一些 CD 为靶点的单抗等靶向药物的应用更能直接影响白血病细胞表面靶向分子的表达;(2)肿瘤微环境免疫状态、细胞因子及其受体的作用^[17]:有研究指出化疗可以促进机体免疫重建^[18]、优化肿瘤微环境^[19],骨髓中的多种细胞因子可从蛋白和基因水平双重调控肿瘤细胞表面标志物的表达,如白介素 3、6 和 11 可增强干细胞标记物 CD44 和 ABCG2 的表达,而白介素 10 和白介素 24 则会显著降低 CD44 和 ABCG2 的表达,但药物优化肿瘤微环境的机制尚不明确;(3)患儿内分泌功能及体内激素水平的变化^[20,21]:鞘注、大剂量氨甲蝶呤化疗和头颅放疗导致的患儿内分泌功能及体内激素水平发生改变,影响肿瘤微环境,从而间接调节了细胞表面 CD 分子的表达^[22]。本次研究只针对抗原表达强度升高或降低的变化趋势进行总结,而不同抗原表达升高或降低的变化幅度也有不同,需通过平均荧光强度(MFI)等量化指标进行评估,这也是本实验室后续工作的研究重点。

儿童 B-ALL 的 LAIP 虽然个体差异较大,但每例患儿均不同程度的表现出其独特的 LAIP 特征^[23,24],能在多个方面帮助我们对疾病进行诊断和预后的评估。(1)B-ALL 的免疫分型确诊:我们不仅能通过分化阻滞、抗原跨系表达、抗原时序表达混乱、抗原表达缺失或强度异常等 LAIP 特征与正常原始细胞区分,还能够与其他类型白血病相区分,如 CD45 在免疫分型中强度变化非常大,可比正常淋巴细胞弱、完全阴性或呈由阴性到弱表达的连续分布,而其他类型白血病则很少出现这样的变化;(2)儿童 B-ALL 的 LAIP 特征还与染色体核型、融合基因及预后有一定相关性:如一岁以内婴儿 CD10 阴性患者,常涉及 11q23 易位,累及 MLL 基因,11q23 易位的患者预后非常差。CD10+CD19+ 伴 CD34 过表和 CD38 弱表达,是 Ph+ALL 特征之一,与 BCR-ABL1 基因相关^[25],且具有 t(9;22)易位患者的生存期明显短于 t(9;22)易位阴性患者,这也提示患者应采取如干细胞移植等更积极的治疗措施。CD10+CD19+CD34+CD20—伴 CD13 跨系表达的儿童患者,提示与 TEL-AML1 基因相关,这类患者预后很好。

流式细胞术(FCM)已经被广泛应用于临床 B-ALL 患儿免疫分型的检测及 MRD 的监测,且已有研究证实了流式细胞术 MRD 早期监测的实用性和优越性^[26,27]。在提倡精准医疗的时代,针对不同复发风险的 ALL 患者,应当制定相应的个体化的治疗与复发监测方案^[28]。因此,每例患儿不同免疫表型的确诊及化疗后微小残留病灶免疫表型改变的分析,可为 MRD 监测时个体化抗体组合的搭配及个体化治疗提供重要依据,也是患儿复发监测的关键性指标。(1)初治时免疫表型是基础:可根据免疫表型进行 B-ALL 的确诊及亚型分类,在患儿后续 MRD 监测过程中,也可根据不同免疫表型为患儿制定个体化的抗体组合方案。高危组患儿,可针对免疫分型高表达的抗原进行靶向

治疗和后续的 MRD 监测;(2)化疗后患儿出现免疫表型调节是治疗过程中不可忽视的重要部分:治疗过程中,白血病细胞表面抗原表达减低的应注意判断,以免出现假阴性结果而漏诊。白血病细胞表面抗原表达不减低甚至表达升高的 CD 分子,则可以作为后续监测指标或作为靶点为难治或复发的 B-ALL 提供新的有利治疗手段。

本研究在免疫分型及 MRD 监测时均选用经典的流式抗体组合,CD10/CD19/CD34/CD45 抗体组合已能将 MRD 检测的灵敏度达到 10⁻⁴,且能早于形态学约 3-4 个月提示复发。为了进一步提高流式 MRD 监测的灵敏度及准确性,流式研究人员仍在探索和开发新的生物标志物及多种检测手段的联合应用。CD47 被证实急性白血病患者白血病细胞表面表达异常升高,且与疗效和预后相关^[29],CD66c 已被发现在 B-ALL 患者白血病细胞上表达稳定且强度高于其他类型白血病,CD73 和 CD86 也被认为是 B 细胞前体急性淋巴细胞白血病 BCP-ALL 常规 MRD 评价中最相关的标志物^[30],CD133-2+CD19- 亚群则可能是儿童 B-ALL 来源的白血病干细胞免疫表型标志,外泌体也可作为白血病的生物标志物和治疗靶点以及影响白血病耐药等。FCM 与多种检测技术联合应用:与 PCR 技术联用^[31],蛋白分子和基因水平检测相结合,提高 MRD 检测的灵敏度。与脑脊液 FCM 监测联合应用可早期发现中枢神经系统白血病细胞,显著提高中枢神经系统白血病诊断阳性率。

参考文献(References)

- [1] 王滕,贾国存. 儿童急性淋巴细胞白血病的诊治现状与预后[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2015, (11): 1666-1668
- [2] Borowitz MJ, Devidas M, Hunger SP, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study[J]. Blood, 2008, 111(12): 5477-5485
- [3] 赵旸. 儿童难治复发急性淋巴细胞白血病的新治疗策略[J]. 临床儿科杂志, 2018, 36(8): 639-642
- [4] 胡淑芬, 谭冬梅, 黎毓光. 急性 B 淋巴细胞白血病微小残留病的监测[J]. 白血病·淋巴瘤, 2013, 22(4): 248-250
- [5] Setiadi A, Owen D, Tsang A, et al. The significance of peripheral blood minimal residual disease to predict early disease response in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. International journal of laboratory hematology, 2016, 38(5): 527-534
- [6] 王月芳, 江咏梅, 高举, 等. 原血细胞对于儿童急性 B 淋巴细胞白血病预后判断的价值[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(4): 292-296
- [7] Baraka A, Sherief LM, Kamal NM, et al. Detection of minimal residual disease in childhood B-acute lymphoblastic leukemia by 4-color flow-cytometry [J]. International journal of hematology, 2017, 105 (6): 784-791
- [8] Fossat C, Roussel M, Arnoux I, et al. Methodological aspects of minimal residual disease assessment by flow cytometry in acute lymphoblastic leukemia: A French multicenter study [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2014: 1
- [9] Fossat C, Roussel M, Arnoux I, et al. Methodological aspects of minimal residual disease assessment by flow cytometry in acute lymphoblastic leukemia: A French multicenter study [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2015, 88(1): 21-29

- [10] Vinhas E, Lucena-Silva N, Pedrosa F. Implementation of a simplified flow cytometric assays for minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Cytometry. Part B, Clinical cytometry, 2018, 94(1): 94-99
- [11] 朱明清, 耿美菊, 何海龙, 等. 186 例儿童急性淋巴细胞白血病免疫表型特征[J]. 中国血液流变学杂志, 2006, 16(4): 556-557
- [12] Jalal SD, Al-Allawi NAS, Al Doski AAS. Immunophenotypic aberrancies in acute lymphoblastic leukemia from 282 Iraqi patients [J]. International journal of laboratory hematology, 2017, 39(6): 625-632
- [13] Harris NL, Jaff ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of neoplasms of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting--Airlie House, Virginia, November, 1997[J]. The hematology journal: the official journal of the European Haematology Association, 2000, 1(1): 53-66
- [14] Burnusuzov HA, Spasova MI, Murdjeva MA, et al. Immunophenotypic Modulation of the Blast Cells in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Minimal Residual Disease Detection[J]. Folia Med (Plovdiv), 2016Mar, 58(1): 28-35
- [15] Gaipa G, Basso G, Maglia O, et al. Drug-induced immunophenotypic modulation in childhood ALL: implications for minimal residual disease detection[J]. Leukemia, 2005, 19(1): 49-56
- [16] Gaipa G, Basso G, Aliprandi S, et al. Prednisone induces immunophenotypic modulation of CD10 and CD34 in nonapoptotic B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2008, 74(3): 150-155
- [17] 朱艳云. 西妥昔单抗联合化疗前后肿瘤微环境中部分免疫指标变化的研究[D]. 解放军总医院, 2011
- [18] Koskenvuo M, Ekman I, Saha E, et al. Immunological Reconstitution in Children After Completing Conventional Chemotherapy of Acute Lymphoblastic Leukemia is Marked by Impaired B-cell Compartment [J]. Pediatric blood cancer, 2016, 63(9): 1653-1656
- [19] 梁冠中, 王艳峰, 韩福才. 化疗对非小细胞肺癌患者外周血中 CD8+CD28-T 细胞表达的影响 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2016, 43(5): 335-339
- [20] Birkebaek NH, Fisker S, Clausen N, et al. Growth and endocrinological disorders up to 21 years after treatment for acute lymphoblastic leukemia in childhood[J]. Med Pediatr Oncol, 1998, 30(6): 351-356
- [21] Leung W, Rose SR, Zhou Y, et al. Outcomes of growth hormone replacement therapy in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Clin Oncol, 2002, 20(13): 2959-2964
- [22] Manka P, Coombes JD, Boosman R, et al. Thyroid hormone in the regulation of hepatocellular carcinoma and its microenvironment[J]. Cancer letters, 2018, 419: 175-186
- [23] 许艳丽, 王顺清, 杜庆华, 等. 造血 B 祖细胞与急性 B 淋巴细胞白血病细胞的流式细胞术免疫表型分析与鉴别 [J]. 白血病·淋巴瘤, 2015, 24(5): 282-286
- [24] Jalal SD, Al-Allawi NAS, Al Doski AAS. Immunophenotypic aberrancies in acute lymphoblastic leukemia from 282 Iraqi patients [J]. International journal of laboratory hematology, 2017, 39(6): 625-632
- [25] Huang YJ, Coustan-Smith E, Kao HW, et al. Concordance of two approaches in monitoring of minimal residual disease in B-precursor acute lymphoblastic leukemia: Fusion transcripts and leukemia-associated immunophenotypes[J]. Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan, 2017, 116(10): 774-781
- [26] Eveillard M, Robillard N, Arnoux I, et al. Major impact of an early bone marrow checkpoint (day 21) for minimal residual disease in flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Hematol Oncol, 2017, 35(2): 237-243
- [27] T Chatterjee, R S Mallhi, S Venkatesan. Minimal residual disease detection using flow cytometry: Applications in acute leukemia [J]. Medical journal, Armed Forces India, 2013, 26(3): 279-284
- [28] 徐殿, 何妙侠, 郑建明. 儿童急性淋巴细胞白血病微小残留病检测及其进展[J]. 检验医学, 2013, 28(4): 342-346
- [29] 宋晓洁, 冯伟平, 韩雪娇, 等. CD47 在急性白血病干细胞中的表达及其对临床疗效及预后的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(29): 5760-5762, 5796
- [30] Tembhare PR, Ghogale S, Ghatwai N, et al. Evaluation of new markers for minimal residual disease monitoring in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: CD73 and CD86 are the most relevant new markers to increase the efficacy of MRD[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2018 Jan, 94(1): 100-111
- [31] Zhang Yan, Tian Li-Ping, Zhang Ying, et al. Prospective study on comparing two methods: for dynamic monitoring of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia[J]. Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi, 2014, 22(1): 50-53
- (上接第 1686 页)
- [23] Carmagnola D, Tarce M, Dellavia C, et al. Engineered scaffolds and cell-based therapy for periodontal regeneration [J]. J Appl Biomater Funct Mater, 2017, 15(4): e303-e312
- [24] Gojkov-Vukelic M, Hadzic S, Pasic E. Evaluation of Efficacy of Surgical Periodontal Therapy with the Use of Bone Graft in the Treatment of Periodontal Intrabony Defects [J]. Med Arch, 2017, 71(3): 208-211
- [25] Mertens B, Orti V, Vialaret J, et al. Assessing a multiplex-targeted proteomics approach for the clinical diagnosis of periodontitis using saliva samples[J]. Bioanalysis, 2018, 10(1): 35-45
- [26] Racy E, Le Norcy E. Orthodontic and orthognathic protocols: systematization of the consultation of announcement and contribution of integrative medicine[J]. Orthod Fr, 2017, 88(4): 367-375
- [27] Piccoli L, Migliau G, Besharat LK, et al. Comparison of two different debonding techniques in orthodontic treatment [J]. Ann Stomatol (Roma), 2017, 8(2): 71-78
- [28] 赵玺, 王媛媛, 李江波, 等. 牙周组织再生术与口腔正畸联合治疗牙周炎患者的临床疗效观察[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(3): 295-298
- [29] Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Hashemi M, et al. Association of macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms with chronic periodontitis in a South Eastern Iranian population [J]. Dent Res J (Isfahan), 2017, 14(6): 395-402
- [30] Ghaffari H, Mirhashemi A, Baherimoghdam T, et al. Effect of Surface Treatment on Enamel Cracks After Orthodontic Bracket Debonding: Er, Cr: YSGG Laser-Etching Versus Acid-Etching [J]. J Dent (Tehran), 2017, 14(5): 259-266