

112例淋巴系统恶性肿瘤骨髓免疫表型分析

凌家瑜^{1,2}, 孙晓非^{1,2}, 严苏丽^{1,3}, 何丽容^{1,3}, 甄子俊^{1,2}, 夏奕^{1,2}

Bone Marrow Immunophenotypes of 112 Cases of Lymphoid System Malignant Diseases

LING Jia-Yu^{1,2}, SUN Xiao-Fei^{1,2}, YAN Su-Li^{1,3}, HE Li-Rong^{1,3}, ZHEN Zi-Jun^{1,2}, XIA Yi^{1,2}

1. 华南肿瘤学国家重点实验室, 广东 广州 510060
2. 中山大学肿瘤防治中心 内科, 广东 广州 510060
3. 中山大学肿瘤防治中心 检验科, 广东 广州 510060

1. State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangzhou, Guangdong, 510060, P. R. China

2. Department of Medical Oncology, Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510060, P. R. China

3. Clinical Laboratory, Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510060, P. R. China

通讯作者: 孙晓非

Correspondence to: SUN Xiao-Fei

Tel: 86-20-87343364

Fax: 86-20-87343535

E-mail: gzsunxf@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-06-26

修回日期: 2007-02-15

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: Diagnosis of lymphocytic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma (NHL) is based on bone marrow morphology. Immunophenotyping will make diagnosis more precise through analyzing the origin and differentiation status of tumor, which is necessary for treatment and prognosis prediction. This study was to analyze the immunophenotypic characteristics of lymphocytic leukemia and NHL with bone marrow involvement using flow cytometry (FCM). **METHODS:** Bone marrow specimens from 112 patients with lymphocytic leukemia or NHL with bone marrow involvement were detected by FCM using antibodies of T, B and myeloid cell series. Using CD45/SSC gating strategy, the samples were analyzed with 5 parameters (FSC, SSC, McAb1-FITC, McAb2-PE, CD45-cytochrome). **RESULTS:** In 45 cases of precursor B lymphoblastic leukemia/lymphoma (B-ALL/LBL), the antigens were mainly CD19, CD10, TdT, CD34, HLA-DR, and CD20. In 32 cases of precursor T lymphoblastic leukemia/lymphoma (T-ALL/LBL), the antigens were mainly CD7, CD5, cytoplasmic (Cy)CD3, TdT, CD34, surface CD3 (sCD3), and HLA-DR. Of the 77 cases of precursor ALL/LBL, 28(36.4%) expressed myeloid-associated antigens, such as CD13 and CD33; 9 (20.0%) cases of B-ALL/LBL coexpressed CD20 and CD34; 28(87.5%) cases of T-ALL/LBL coexpressed cyCD3 and TdT. Among the 35 cases of mature B-cell malignancies, 17 cases of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) mainly expressed CD19, CD20, CD5, HLA-DR, with coexpression of CD19 and CD5; 4 cases of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) mainly expressed CD19, CD20, CD10, and HLA-DR; 3 cases of Burkitt's lymphoma (BL) mainly expressed CD19, CD10, CD20, and sIgM; 1 case of mantle cell lymphoma (MCL) expressed CD5, CD19, CD20, and HLA-DR. Among the 10 mature T-cell malignancies, 5 cases of unspecialied peripheral T-cell lymphoma (PTCL) mainly expressed sCD3, CD5 and CD7, CD4 or CD8; 1 case of anaplastic large cell lymphoma (ALCL) expressed sCD3 and HLA-DR; 4 cases of NK/T-cell malignancies expressed CD56 and HLA-DR, CD4 or CD8 or CD7. Mature lymphoid system malignancies didn't express early antigens, such as CD34 and TdT, but expressed myeloid-associated antigens, especially CD13 and CD33. **CONCLUSION:** Multiparameter FCM can not only provide data of cell lineage and differentiation status but also detect phenotypic aberrancies, which is helpful for minimal residual disease detecting.

KEYWORDS: Lymphocytic leukemia; Non-Hodgkin's lymphoma; Flow cytometry; Immunophenotype

【摘要】 背景与目的: 淋巴细胞白血病和淋巴瘤骨髓侵犯的诊断以细胞形态学为基础, 而免疫分型可通过获得肿瘤细胞分化和发育阶段的信息使淋巴系统恶性肿瘤的诊断更为准确, 为临床合理治疗和预后判断提供重要的科学依据。本研究

应用多参数流式细胞术(flow cytometry, FCM)探讨淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)骨髓侵犯的免疫表型特点。方法:收集112例病理确诊 NHL 并伴骨髓侵犯和淋巴细胞白血病患者的骨髓标本。应用 FCM 检测肿瘤细胞的免疫表型。结果:45例前驱 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤(precursor B lymphoblastic lymphoma/leukemia, B-ALL/LBL)主要表达 CD19、CD10、TdT、CD34、HLA-DR 和 CD20;32例前驱 T 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤(precursor T lymphoblastic lymphoma/leukemia, T-ALL/LBL)主要表达胞内 CD3(cytoplasmic CD3, CyCD3)、CD7、CD5、TdT、膜表面 CD3(surface CD3, sCD3)和 HLA-DR。77例前驱淋巴细胞肿瘤中,28例(36%)有髓系抗原 CD13、CD33 的表达;9例(20%)B-ALL/LBL 病例有 CD20 与 CD34 共同表达,28例(87.5%)T-ALL/LBL 病例有 CyCD3 与 TdT 共同表达。成熟淋巴细胞肿瘤 35 例,其中 17 例慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤主要表达 CD19、CD20、CD5 和 HLA-DR,并有 CD19 与 CD5 共同表达。4 例弥漫大 B 细胞性淋巴瘤主要表达 CD19、CD20、CD10 和 HLA-DR。3 例伯基特淋巴瘤主要表达 CD19、CD10、CD20、SIgM。1 例套细胞淋巴瘤表达 CD5、CD19、CD20、HLA-DR。5 例外周 T 细胞淋巴瘤(PTCL)主要表达 sCD3、CD5、CD7、CD4 或 CD8。1 例间变性大细胞淋巴瘤主要表达 sCD3、HLA-DR。4 例 NK/T 细胞淋巴瘤表达 CD56、HLA-DR,也表达 CD7 或 CD4 或 CD8。成熟淋巴细胞肿瘤不表达早期抗原如 CD34、TdT。成熟淋巴细胞肿瘤可伴有髓系抗原 CD13、CD33 的表达。结论:淋巴系统恶性肿瘤侵犯骨髓采用形态学结合 FCM 免疫学分型可获得 T、B 细胞来源、肿瘤细胞分化阶段和异常抗原表达等参数,有助于临床诊断和微小残留病灶的检测。

关键词:淋巴细胞白血病;非霍奇金淋巴瘤;流式细胞术;免疫分型

中图分类号:R733.1 文献标识码:A

文章编号:1000-467X(2007)04-0418-05

流式细胞术(flow cytometry, FCM)已经成为血液系统恶性疾病诊断的重要工具,常用于区分血细胞的谱系、分化程度,确认恶性血细胞群的克隆性、异质性和异常抗原表达等。WHO 淋巴组织肿瘤新分类规定恶性淋巴瘤中每一种独立疾病的诊断需结合形态学、免疫表型、遗传学和临床特点来确定,其中第一条原则是用形态学和免疫表型特点来确定主要的分化细胞类型^[1]。目前有大量文献报道急性淋巴细胞白血病 FCM 免疫表型分析,但对非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)的骨髓侵犯免疫表型报道较少,本研究将分析我中心淋巴细胞白血病和 NHL 骨髓侵犯 FCM 免疫表型特点。

1 资料与方法

1.1 标本来源

中山大学肿瘤防治中心内科 2000 年 12 月到

2006 年 4 月收治的确诊为 NHL 侵犯骨髓和淋巴细胞白血病患者 112 例。其中男性 82 例,女性 30 例。年龄 7 个月至 75 岁,中位年龄 17.5 岁。按照 WHO 淋巴组织肿瘤分类(2001):前驱淋巴母细胞肿瘤 77 例,其中前驱 B 淋巴母细胞肿瘤(precursor B lymphoblastic lymphoma/leukemia, B-LBL/ALL)45 例(B-LBL 12 例, B-ALL 33 例),前驱 T 淋巴母细胞肿瘤(precursor T lymphoblastic lymphoma/leukemia, T-LBL/ALL)32 例(T-LBL 23 例, T-ALL 9 例);成熟淋巴细胞肿瘤 35 例,其中 B 淋巴细胞肿瘤 25 例,包括慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤(chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma, CLL/SLL)17 例,弥漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)4 例,伯基特淋巴瘤(burkitt lymphoma, BL)3 例,套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma, MCL)1 例;T 细胞和 NK 细胞肿瘤 10 例,包括非特殊性外周 T 细胞淋巴瘤(peripheral mature T lymphoma, unspecified, PTCL)5 例,间变性大细胞淋巴瘤(anaplastic large cell lymphoma, ALCL)1 例, NK/T 淋巴瘤 4 例。共 112 份骨髓标本。标本取材:抽取 1 ml 骨髓标本肝素抗凝,置 4℃冰箱保存,48 h 内进行检测。

1.2 单克隆抗体来源

荧光标记的单克隆抗体包括 T、B、Myeloid 细胞系列,用两个系列或阶段特异性单抗加 CD45 进行三色荧光染色:McAb1-FITC、McAb2-PE、CD45-Cychrome。单克隆抗体 CD10、CD19、CD20、CD3、CD5、CD7、CD13、CD33、MPO、TdT、CD34、HLA-DR (human leukocyte antigen DR)、CD38、CD45、sIgM (surface immunoglobulin M)、Kappara、Lambda 等均从 Coulter 公司购买。

1.3 方法

按 FCM 表面抗原和胞内抗原标记常规方法标记。分析软件为 CellQuest。采用 CD45/SSC 设门方法计算各细胞群所占百分率,鉴别幼稚或成熟细胞,经 FSC、SSC、McAb1-FITC、McAb2-PE、CD45-Cychrome 5 个参数进行分型,确定免疫表型。

2 结果

2.1 前驱淋巴细胞肿瘤骨髓标本免疫表型分析

前驱淋巴母细胞肿瘤 77 例中,42 例骨髓形态学报告 ALL,35 例组织病理结合免疫组化报告 LBL,骨髓形态学为 NHL 侵犯骨髓,其中 B-ALL/

LBL 45例(58.4%), T-ALL/LBL 32例(41.6%), 前驱 LBL/ALL 肿瘤细胞群位于 CD45/SSC 双对数散点图中低中表达区(幼稚细胞区)。B-ALL/LBL 主要表达CD19(97.8%)、CD10(73.3%)、CD20(33.3%)、TdT(86.7%)、CD34(55.6%)、HLA-DR(80.0%); T-ALL/LBL 主要表达胞内(cytoplasm, Cy)CD3(100%)、CD7(100%)、CD5(78.1%)、膜表面(surface, s)CD3(34.4%)、TdT(71.9%)、CD34(59.4%)、HLA-DR(31.3%)和 CD10(28.1%)。77例前驱淋巴瘤肿瘤均有早期抗原 TdT 和/或 CD34表达。存在髓系抗原交叉表达 CD13(23.4%)、CD33(13.0%); B-ALL/LBL 中不同步或异位抗原如 CD20 与 CD34 共同表达占 20.0%; T-ALL/LBL 有 CyCD3 与 TdT 共同表达占 87.5%。

2.2 成熟淋巴细胞肿瘤骨髓标本免疫表型分析

成熟淋巴细胞肿瘤 35 例, 肿瘤细胞群位于 CD45/SSC 双对数散点图的成熟淋巴细胞区域, 数量比正常淋巴细胞的数量高, 均无早期抗原 CD34、TdT 表达, 存在系列异常表达, 2 例(5.7%)表达髓系抗原 CD13, 2 例(5.7%)表达髓系抗原 CD33。

成熟 B 细胞 NHL 25 例, SLL/CLL 17 例(68%), DLBCL 4 例(16%), BL 3 例(12%), MCL 1 例(4%)。免疫表型见表 1。18 例(72%)表达 T 系抗原 CD5, 100%的 SLL/CLL 均有 CD5 与 CD19 共同表达。

成熟 T 细胞 NHL 6 例, 包括 PTCL 5 例, ALCL 1 例; NK/T 细胞淋巴瘤 4 例, 免疫表型见表 2。10 例成熟 T 和 NK 细胞肿瘤, 2 例(20%)表达 B 系抗原 CD10。

表 1 成熟 B 细胞恶性肿瘤免疫表型

Table 1 Immunophenotypes of mature B-cell malignancies

Group	Cases	CD19	CD10	CD20	CD5	TdT	CD34	HLA-DR
CLL/SLL	17	100%	0	100%	100%	0	0	100%
DLBCL	4	100%	50%	100%	0	0	0	100%
BL	3	100%	100%	100%	0	0	0	33%
MCL	1	100%	0	100%	100%	0	0	100%

CLL/SLL, chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma; BL, Burkitt's lymphoma; MCL, mantle cell lymphoma.

表 2 成熟 T 细胞恶性肿瘤免疫表型

Table 2 Immunophenotypes of mature T-cell malignancies

Group	Cases	sCD3	CD5	CD7	CD56	TdT	CD34	HLA-DR
PTCL	5	100%	80%	60%	0	0	0	40%
ALCL	1	100%	0	0	0	0	0	100%
NK/T	4	0	0	25%	100%	0	0	75%

PTCL, peripheral T-cell lymphoma; ALCL, anaplastic large cell lymphoma.

*One case of NK/T-cell malignancy expresses CD4 and 1 case expresses CD8.

3 讨论

WHO(2001)新分类以细胞形态学和免疫表型为依据把淋巴组织肿瘤系统分类, 据免疫学表型特征又将其分为 B 细胞和 T/NK 细胞来源两大类。骨髓是 NHL 经常侵犯的部位, 总发生率为 40%~50%^[2]。国际预后指数(international prognostic index, IPI)中的一项决定因素是肿瘤分期, 因而骨髓侵犯的诊断(IV期, Ann Arbor 分期系统)影响着 NHL 的预后和治疗策略。完善分期检查时常规行骨髓穿刺术、骨髓涂片找异常细胞。FCM 免疫分型补充了传统形态学诊断的不足, 提供更多的信息以区分淋巴细胞

的谱系和分化阶段。因此运用 FCM 探讨骨髓、体液(胸水、心包积液)中异型淋巴细胞的免疫表型具有重要临床意义。

前驱淋巴母细胞淋巴瘤(LBL)和急性淋巴细胞白血病(ALL)在细胞学和超微结构特征上相同, 两者是同一疾病的不同表现形式^[3], 治疗方法相同, 本研究将其统一分析。本文中 77 例 ALL/LBL, 骨髓形态学报告为 ALL 或淋巴瘤侵犯骨髓, 其中 B-ALL/LBL 45 例(58.4%), T-ALL/LBL 32 例(41.6%)。B-ALL/LBL 表达 B 细胞系列抗原 CD19、CD10、CD20 和早期抗原 TdT、CD34、HLA-DR, 其中 CD19 的敏感性最强, 只有 1 例为阴性, 阳性率达 97.8%,

张秋堂等^[4]报道 B 细胞 ALL 流式细胞术免疫分型的结果示 CD19 表达率为 100%, 而 Hurwitz 等^[5]报道 B 系 ALL CD19 的表达率为 98%。T-ALL/LBL 表达 T 细胞系列抗原 CyCD3、CD7、CD5、sCD3 和早期抗原 TdT、CD34、HLA-DR。CD7 和 CyCD3 最敏感, 阳性率达 100%。本研究中 CD19 和 CD7、CyCD3 分别是 B-ALL/LBL 和 T-ALL/LBL 最敏感标记, 表达率分别为 97.8%和 100%, 但有报道显示, CD19 可以表达于 T-ALL 而 CD7 可以表达于髓系白血病^[6,7]。因此, 当同一标本既有 T 系表达又有 B 系表达, 甚至伴有粒系表达的时候, 需要更具特异性的抗原以区分抗原交叉表达和混合性白血病的情况。Pui 等^[8]认为胞内抗原 CyCD79 α 、CyCD3、CyMPO 具有高度特异性, 结合 CD19、CD7、CD13 或 CD33, 确诊率达到 99%。CD10 在我们的研究中 B-ALL/LBL 和 T-ALL/LBL 的阳性率分别是 73.3%和 28.1%, 有文献报道 B-LBL/ALL 缺失 CD10 提示预后不良, 但是 T-LBL/ALL 表达 CD10 对预后的影响未有定论^[3]。

本研究见 B-ALL/LBL 有不同步抗原表达, 如 20%的病例有 CD20 与 CD34 共同表达, 与 Hurwitz 等^[5]研究报道 21%的 B-ALL 有 CD20 与 CD34 共同表达结果相似。CD34 是干细胞早期标记, CD20 是 B 细胞后期抗原, 任何分化阶段的正常 B 细胞不可能同时表达 CD20 和 CD34, 因此, 共同表达 CD20 和 CD34 被视为 B-ALL 细胞的异常免疫表型之一。本组病例可见 T-ALL/LBL 有异位免疫表型如 CyCD3 和 TdT 共同表达占 87.5%, Porwit-Macdonald 等^[9]统计的 68 例 T-ALL 中 CyCD3 和 TdT 共同表达占了 91.0%。CyCD3+/TdT+/CD7+免疫表型共同表达于最原始的前驱胸腺细胞, 而在正常骨髓十分罕见 ($<1/10^4$), 当骨髓中 CyCD3 和 TdT 共同表达的细胞 $>1/10^4$ 时可以确定为白血病骨髓。CD20 和 CD34 或 CyCD3 和 TdT 共同表达有可能成为 FCM 检测 ALL/LBL 微小残留病灶的有力依据^[5,9]。本组病例的前驱淋巴细胞肿瘤可有髓系抗原表达 (My+), 如 CD13 (23.4%)、CD33 (13.0%), 有学者认为, My 阳性的 ALL 可能与某种染色体异常有关, 但没有预后意义^[10]。

同时应用骨髓形态学和具有更高敏感性和特异性的 FCM 检查骨髓标本, 使 NHL 骨髓侵犯的阳性率提高了 10%~20%^[2,11]。本研究纳入成熟淋巴细胞肿瘤侵犯骨髓共 35 例, B 系 25 例, T 系 6 例, NK/T 细胞淋巴瘤 4 例。成熟淋巴细胞肿瘤的异常

细胞群多数位于正常淋巴细胞群的位置, 即 CD45 高荧光强度 (FI)、SSC 低 FI, 区别于位于幼稚细胞区域 (CD45 中低 FI、SSC 低 FI) 的前驱淋巴细胞肿瘤。成熟淋巴细胞肿瘤 CD34、TdT 阴性, CD45 阳性, 有助于与前驱淋巴母细胞淋巴瘤/白血病鉴别。但需要注意与正常淋巴细胞群鉴别, 正常淋巴细胞群同样也位于此位置。根据淋巴细胞群的数量, 结合抗原的表达情况和骨髓形态学也能作出正确的诊断。

CLL/SLL 为同一疾病的不同发展阶段, 而不是两个独立的病种, 因此在 WHO2001 新分类被归为一起, 本文也将 CLL/SLL 的数据统一分析。17 例 CLL/SLL CD19、CD5、CD20、HLA-DR 阳性率都达 100%, CD10 全部阴性, CD5 和 CD19 共同表达占 100%。CD5 和 CD19 共同表达是 CLL/SLL 的特点, 也是区分滤泡淋巴瘤的标记。滤泡淋巴瘤 CD5 为阴性。有 4 例 SLL/CLL 原病理报告为 DLBCL, 骨髓报告为不成熟淋巴细胞或 NHL 侵犯骨髓或者淋巴瘤肉瘤白血病。然而这些病例的 FCM 结果为: 细胞位于成熟淋巴细胞区域, CD5 和 CD19 共同表达, 结合临床特点和免疫表型, 经过我科的多学科讨论而确诊为 CLL/SLL。另 4 例 DLBCL 主要表达 CD19、CD20 和 HLA-DR, 50%病例 CD10 阳性。3 例 BL CD19、CD20、CD10 和 SIgM 均阳性, CD5 全部阴性, 而且早期抗原如 TdT、CD34 阴性。1 例 MCL 表达 CD19、CD20、CD5 和 HLA-DR, CD10 阴性。成熟 T 淋巴细胞肿瘤主要表达 sCD3、CD7 和 CD5, 其中 sCD3 阳性率达 100%, 明显高于前驱 T 细胞肿瘤 (34%, $P=0.002$)。4 例 NK 细胞肿瘤 CD56 均阳性 (70%以上), sCD3 均阴性伴有 CD7 或 CD4 或 CD8 阳性。

FCM 凭借多抗体结合, 可检测一个细胞上同时表达的多种抗原, 其高敏感性的优势有助于检测显微镜下发现不了的微小病灶。本研究中前驱 B-LBL/ALL 有 20%病例单个肿瘤细胞上存在 CD20 与 CD34 共同表达, 而前驱 T-LBL/ALL 则有 87.5%病例单个肿瘤细胞上存在 cyCD3 与 TdT 共同表达, 这些异位表达可作为治疗后残留病灶检测的标记。本研究中对成熟淋巴细胞肿瘤检测的抗体数量偏少, 仅是常用的 T、B 细胞标记和早期抗体标记。故较难鉴别具体的类型, 可增加 CD30 抗体检测鉴别间变 T-NHL、Cyclin D1 鉴别套细胞淋巴瘤。

本研究初步探讨了不同病理类型恶性淋巴细胞肿瘤骨髓侵犯的免疫表型特点, 为正确的诊断、

分期和治疗提供了可靠的依据。根据肿瘤细胞抗原的系列交叉和异常表达作为微小残留病灶的检测和追踪值得进一步探讨。

[参 考 文 献]

- [1] 朱雄增. 恶性淋巴瘤 WHO 新分类的特点 [J]. 上海医学, 2001,24(3):135-137.
- [2] Sharp J, Joshi S, Armitage J O, et al. Significance of detection of occult non-Hodgkin's lymphoma in histologically uninvolved bone marrow by a culture technique [J]. Blood, 1992,79(4):1074-1080.
- [3] Conde-Sterling D A, Aguilera N S, Nandedkar M A, et al. Immunoperoxidase detection of CD10 in precursor T-lymphoblastic lymphoma/leukemia;a clinicopathologic study of 24 cases [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000,124(5):704-708.
- [4] 张秋堂,李 涛. 201例成人急性白血病免疫分型特点[J]. 检验医学, 2005,20(4):373-375.
- [5] Hurwitz C A, Loken M R, Graham M L, et al. Asynchronous antigen expression in B lineage acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 1988,72(1):299-307.
- [6] Ciudad J, San Miguel J F, Lopez-Berges M C, et al. Prognostic value of immunophenotypic detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 1998,16(2):3774-3781.
- [7] Voskova D, Valekova L, Fedorova J, et al. Leukemic cells and aberrant phenotypes in acute leukemia patients: a flow cytometry analysis [J]. Neoplasma, 2003,50(6):422-427.
- [8] Pui C H, Evans W E. Acute lymphoblastic leukemia [J]. N Engl J Med, 1998,339(9):605-615.
- [9] Porwit-MacDonald A, Bjofklund E, Lucio P, et al. BIOMED-1 concerted action report: flow cytometric characterization of CD7⁺ cell subsets in normal bone marrow as a basis for the diagnosis and follow-up of T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) [J]. Leukemia, 2000,14(5):816-825.
- [10] Pui C H, Rubnitz J E, Hancock M L, et al. Reappraisal of the clinical and biologic significance of myeloid-associated antigen expression in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 1998,16(2):3768-3773.
- [11] Letwin B W, Wallace P K, Muirhead K A, et al. An improved clonal excess assay using flow cytometry and B-cell gating [J]. Blood, 1990,75(5):1178-1185.
- [12] Mazur G, Halon A, Wrobel T, et al. Contribution of flow cytometric immunophenotyping and bone marrow trephine biopsy in the detection of lymphoid bone marrow infiltration in non-Hodgkin's lymphomas [J]. Neoplasma, 2004,51(3):159-163.
- [13] Gomyo H, Shimoyama M, Minagawa K, et al. Morphologic, flow cytometric and cytogenetic evaluation of bone marrow involvement in B-cell lymphoma [J]. Haematologica, 2003,88(12):1358-1365.
- [14] Duggan P R, Easton D, Luider J, et al. Bone marrow staging of patients with non-Hodgkin lymphoma by flow cytometry [J]. Cancer, 2000,88(4):894-899.
- [15] 孙晓非,何丽容,冯海林,等. 多参数流式细胞术在淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯诊断的应用 [J]. 癌症, 2003,22(11):1232-1236.

[编辑:杨允贵;校对:庄爱华]