

实验技术与方法

DOI:10.14188/j.ajsh.20240705001

基于流式细胞术构建慢性粒细胞白血病的诊断模型

马耀坤^{1,2}, 商芳影², 宋亮亮², 马斌², 刘钰², 陈琼², 刘万红^{1*}

(1. 武汉大学泰康医学院(基础医学院), 湖北 武汉 430071;

2. 武汉康圣达医学检验所有限公司流式细胞实验室, 湖北 武汉 430205)

摘要: 流式细胞术的免疫分析在恶性血液病诊断中发挥着重要作用。然而在慢性粒细胞白血病慢性期(chronic myeloid leukemia in chronic phase, CML-CP)的诊断中,流式细胞术主要作为辅助诊断手段。本研究使用流式细胞术分析了500例CML-CP样本和106例非CML样本的免疫分析数据,采用统计学分析方法对CML组和非CML组进行显著性检验,并通过logistic回归构建诊断模型。结果显示,CML组和非CML组在Neu%、Baso%、CD10⁺%、CD38⁺%、CD56⁺%、CD64⁺CD16⁻%、CD15⁺CD11b⁺%和Eos%等标志物上存在显著差异($p < 0.01$);并利用步进法构建出CMLflowscore诊断公式,该公式除常数外由5个指标构成,其受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积为0.989,灵敏度为98.0%,特异性为96.2%。值得注意的是,本研究发现了CML-CP在流式细胞诊断过程中的潜在诊断标志物,并构建了新的诊断公式,这些发现可以让流式细胞术在CML-CP的初次诊断中发挥关键作用。

关键词: 慢性粒细胞白血病;流式细胞术;诊断;CMLflowscore

中图分类号: R733

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2024)04-0397-09

A diagnostic model of chronic myelogenous leukemia based on flow cytometry

MA Yaokun^{1,2}, SHANG Fangying², SONG Liangliang², MA Bin², LIU Yu²,CHEN Qiong², LIU Wanhong^{1*}

(1. Taikang Medical School (School of Basic Medical Sciences), Wuhan University, Wuhan 430071, China;

2. Flow Cytometry Laboratory, Wuhan Kindstar Medical Laboratory Co., Ltd., Wuhan 430205, China)

Abstract: Flow cytometry immunophenotyping plays a prominent role in diagnosis of malignant hematological disorders. However, in the diagnosis of chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP), flow cytometry serves primarily as an auxiliary diagnostic tool. We analyze the immunoassay data from 500 CML-CP patients and 106 non-CML patients with flow cytometry, use statistical analysis to test the significance of CML and non-CML groups, and construct diagnostic model by logistic regression. The results show that there are significant differences ($p < 0.01$) between the markers of CML and non-CML groups, such as Neu%, Baso%, CD10⁺%, CD38⁺%, CD56⁺%, CD64⁺CD16⁻%, CD15⁺CD11b⁺%, and Eos%. The stepwise method is used to construct the CMLflowscore diagnostic formula, which consisted of five indicators in addition to the constant, and its area under the receiver operating characteristic (ROC) curve is 0.989, with a sensitivity of 98.0% and a specificity of 96.2%. Notably, the potential diagnostic markers for CML-CP are identified, and a novel diagnostic formula is constructed. These findings suggest that flow cytometry can play a crucial role in the initial diagnosis of CML-CP.

收稿日期: 2024-07-05 修回日期: 2024-07-22 接受日期: 2024-08-23

作者简介: 马耀坤(1989-),男,硕士生,主管技师,研究方向为生物医学工程。E-mail: mayaokun@kindstar.com.cn

* 通讯联系人: 刘万红(1969-),男,博士,教授,研究方向为生物医学工程。E-mail: liuwanhong@whu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(52073022); 武汉大学“基础-中南”共建项目培育基金(202205)

引用格式: 马耀坤, 商芳影, 宋亮亮, 等. 基于流式细胞术构建慢性粒细胞白血病的诊断模型[J]. 生物资源, 2024, 46(4): 397-405.

Ma Y K, Shang F Y, Song L L, et al. A diagnostic model of chronic myelogenous leukemia based on flow cytometry [J]. Biotic Resources, 2024, 46(4): 397-405.

Key words: chronic myeloid leukemia (CML); flow cytometry; diagnosis; CMLflowscore

0 引言

慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)占成人白血病的15%,全球年发病率为1.6/10万~2/10万^[1]。它主要是由t(9;22)导致BCR::ABL(breakpoint cluster region gene::Abelson proto-oncogene)重排引发骨髓造血干细胞克隆性增殖形成的恶性肿瘤^[2]。自2000年起使用酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)后,CML慢性期(CML in chronic phase, CML-CP)的死亡率由之前的10%~20%下降到1%~2%。正是由于TKI靶向作用于BCR::ABL(chimeric gene of BCR and ABL)重排,使得CML的5年生存率由之前的20%上升到70%~80%。

流式细胞术被广泛应用于血液疾病的诊断及微小残留病监测^[3-5],它与形态学(morphology)、免疫学(immunophenotype)、细胞遗传学(cytogenetics)、分子生物学(molecular biology)组成的MICM诊断体系是血液病诊断的趋势^[6]。CML-CP的诊断则主要依靠形态学、分子生物学、细胞遗传学,其中骨髓核型检测t(9;22)和定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)是诊断CML的常规实验室检查。由于技术问题,利用传统的核型分型可能找不到t(9;22),在这种情况下,可以通过使用特定染色体标记的荧光原位杂交(fluorescent-in-situ-hybridisation, FISH)来鉴定BCR::ABL^[7]。流式细胞术作为血液疾病诊断的主要方式,主要被用于CML急变后的系别判断^[8],其在慢性期诊断领域仅作为辅助。

研究发现,CML的白血病干细胞的表型与正常骨髓表型不一致^[9],其中,CD26的表达可能源于BCR::ABLp210的转化^[10],使得流式细胞术在CML疾病的诊断及预后中有了一定的作用,但通过单一抗体对疾病进行诊断存在较大不确定性,并且CML也并非都是p210克隆^[11]。本研究比对500例CML样本与106例非CML样本的免疫表型,利用统计学方法找出对CML-CP诊断具有影响的指标,进而通过指标参数组合构建诊断模型,使流式细胞术在CML-CP的诊断中发挥更大作用。

1 材料与方法

1.1 样本与数据

回顾性分析了2019-01—2022-07,608例取材

为骨髓或外周血,临床进行了BCR::ABL检测的免疫表型数据,其中,qRT-PCR检测BCR::ABL阳性归为CML-CP样本,即CML组;而BCR::ABL阴性归非CML组。为保证构建方程的准确性,本研究CML组为500例,非CML组为106例。按照不同流式细胞仪Becton Dickinson (BD) FACS Canto和Beckman Coulter (BC) DxFlex的不同,又分为BD组和BC组,样本选择示意图如图1所示。其中,非CML组的诊断情况见表1。

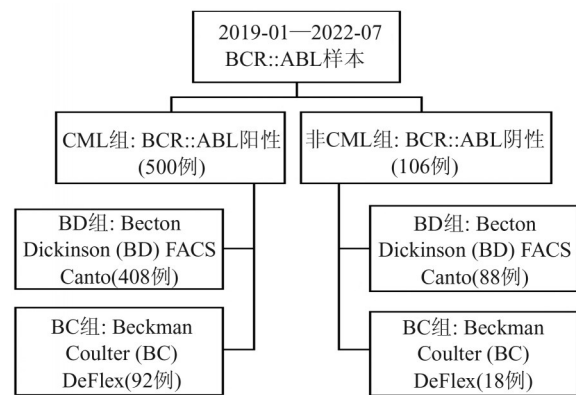


图1 样本选择示意图

Fig. 1 Flow chart of sample selection

表1 非CML样本的最终诊断
Table 1 Final diagnosis of non-CML patients

诊断	例数
骨髓增殖性肿瘤	38
急性白血病	5
高嗜酸性粒细胞增多症	2
骨髓增生异常综合征	11
淋巴瘤	4
正常	46
合计	106

1.2 流式细胞术

将骨髓或外周血样本与CD10、CD45、CD16、CD64、CD15、CD11b、CD56、CD34、CD117、CD38、CD123等胞膜外抗体进行避光孵育,使用相应通道的同型对照作为阴性对照,随后分别使用红细胞裂解液裂解,PBS洗涤后(抗体及试剂信息见表2),通过Canto与DxFlex获取数据,使用BD FACSDiva Software v9.0或Kaluza Analysis 2.1进行分析。其中,分别应用SSC/CD45和SSC/CD123联合设门确定中性粒细胞、嗜碱性粒细胞及嗜酸性粒细胞,设门方式如图2所示。10个研究指标为中性粒细

表 2 抗体及试剂信息
Table 2 Information of antibody and reagent

分类	试剂	荧光	克隆	厂家	货号
管 1	CD10	FITC	HI10a	BD	652510
	CD123	PE	9F5	BD	340545
	CD38	V450	HB7	BD	663501
	CD34	APC	8G12	BD	652837
	CD45	PerCP	2D1	柏真优	045-104-3
	CD117	PE-CY7	104D2	Biolegend	313212
管 2	CD64	FITC	10.1	BD	55527
	CD11b	PE	D12	BD	333142
	CD56	PE-CY7	NCAM16.2	BD	663487
	CD16	APC-CY7	3G8	BD	557758
	CD15	V450	MMA	BD	663504
	CD45	PerCP	2D1	柏真优	045-104-3
其他	Lysis Buffer			BD	349202
	PBS			BOSTER	AR0030

注: APC: Allophycocyanin; APC-CY7: APC-Cyanin 7; FITC: fluorescein Isothiocyanate; PE: Phycoerythrin; PE-CY7: PE-Cyanin 7; PerCP: Peridinin chlorophyll protein; V450: Violet 450; PBS: Phosphate buffer saline; Lysis Buffer: BD FACS Lysing Solution 10X Concentrate。

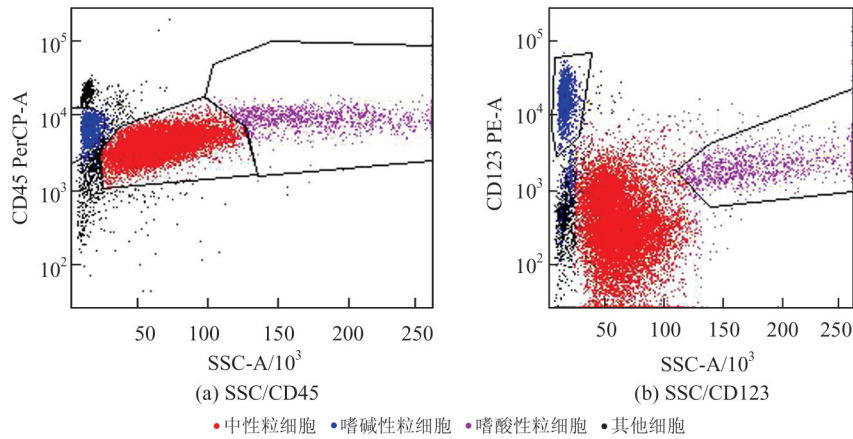


图 2 流式细胞术设门分析
Fig. 2 Flow cytometry gating analysis

胞占有核细胞比例 (Neu%)、嗜酸性粒细胞占有核细胞的比例 (Eos%)、CD10⁺ 占粒细胞比例 (CD10⁺%)、CD38⁺ 占粒细胞比例 (CD38⁺%)、嗜碱性粒细胞占有核细胞的比例 (Baso%)、CD56⁺ 占粒细胞比例 (CD56⁺%)、CD64⁺CD16⁻ 占粒细胞比例 (CD64⁺CD16⁻%)、CD15⁺CD11b⁺ 占粒细胞比例 (CD15⁺CD11b⁺%)、CD34⁺ 占有核细胞的比例 (CD34⁺%)、CD34⁺CD117⁺ 占 CD34⁺ 细胞的比例 (CD34⁺CD117⁺%)。

1.3 统计学

基于 U 检验研究不同组别、不同仪器之间的差异性, 基于受试者操作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线计算灵敏度和特异度。应

用 logistic 回归构建方程, 其中, 应用 Wald 系数对方程进行假设检验, 使用 Nagelkerke 的 R² 判断方程的拟合效果。所有统计均使用 IBM SPSS v26.0 进行, 各统计图由 GraphPad Prism 9.0.0 完成。

2 结果与分析

2.1 样本特征分析

500 例 CML 样本的中位发病年龄为 50 岁, 平均年龄为 48 ± 1.5 岁, 范围在 2~91 岁, 见图 3(a); 样本发病的男女比约为 3:2, 见图 3(b); 其白细胞计数 (以库尔克法计数) 平均值为 209.17 × 10⁹/L, 范围为 2.7~911.9 × 10⁹/L, 见图 3(c)。10 个指标的统计描述性信息见表 3。

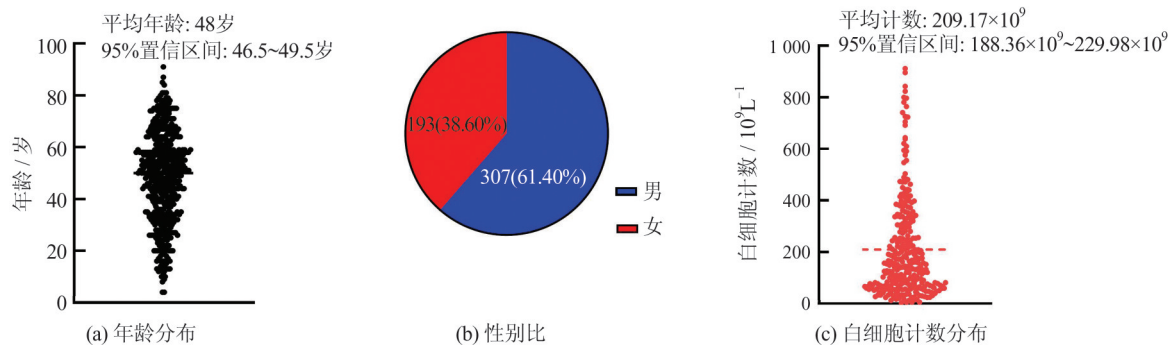


图3 样本特征分析

Fig. 3 Patient characteristic analysis

2.2 不同仪器检测结果的比较分析

分别对BD组的CML和非CML样本、BC组的CML和非CML样本的10个指标进行统计学分析。在BD组发现Neu%、Baso%、CD10%、CD38%、CD56%、CD64⁺CD16⁻%、CD15⁺CD11b⁺%和Eos% 8个指标存在显著的统计学差异($p < 0.01$), 见图4(a); 同样在BC组也发现了相同指标的统计学显著性, 见图4(b)。

2.3 不同组别检测结果的比较分析

对CML组中的BD仪器组和BC仪器组及非CML组中的BD仪器组和BC仪器组进行统计学分析, 发现在CML组中, 两种仪器的10个指标均无统计学差异, $p > 0.05$, 见图5(a)。在非CML组中, 两种仪器的10个指标也无统计学差异, $p > 0.05$, 见图5(b)。通过上述结论可知, BD仪器和BC仪器对本研究的10个指标不存在干扰, 故在后续分析中, 仅对CML组和非CML组进行统计学研究。

2.4 关键指标的ROC分析

§2.2中的8个指标在CML组和非CML组中存在统计学意义, 对其进行ROC分析, 如曲线下面积(area under the curve, AUC)。将上述结果中存在明显差异性的8个指标进行ROC分析(见图6), 其中, Neu% (AUC=0.914)、CD38% (AUC=0.871)、Baso% (AUC=0.864)、CD64⁺CD16⁻% (AUC=0.850)的AUC大于或等于了0.85, 提示有较好的判断效果, Eos%的AUC最低(0.705), 仍有一定的判断价值, 使用约登指数找出ROC上的阈值点, 得出灵敏度和特异性。从灵敏度来看, 除Neu%(灵敏度为86.8%)和CD64⁺CD16⁻% (灵敏度为83.4%)外, 其余指标的灵敏度均不高。但在特异性上, Neu% (特异性为85.8%)、Baso% (特异性为87.7%)、CD10% (特异性为87.8%)、CD38% (特异性为90.6%)、CD15⁺CD11b⁺% (特异性为87.0%)均有较高的特异性。

2.5 构建诊断方程

基于logistic步进法, 用Neu%、Baso%、CD10%、CD38%、CD56%、CD64⁺CD16⁻%、CD15⁺CD11b⁺%和Eos%构建回归方程, 其 $R^2=0.908$, 预测正确率为97.9%, 如表4所示。

方程的ROC分析结果见图7, 其AUC=0.989, 灵敏度为98.0%, 特异性为96.2%, 其最佳阈值为0.750, 调整常数后得到方程: $CML_{flowscore} = NEU\% \times 0.300 + CD38\% \times 0.194 + Baso\% \times 0.705 + CD56\% \times 0.055 + CD64\%CD16\% \times 0.119 - 31.566$, 大于0为CML(见图8)。

3 讨论

CML是一种起源于骨髓造血干细胞的增生性肿瘤, 其预后及5年无病生存率均较好。近年来, TKI的广泛使用, 极大提高了其治愈率。对初诊病人进行快速准确诊断是精准治疗的依据。本研究确诊为CML-CP的500例样本中, 其中位年龄为50岁, 平均年龄为48.5±1.5岁, 这与已报道的结论一致^[12]。男女性别比约为3:2, 比率是1.5, 略高于国际报道^[12], 但与国内研究结果基本一致^[13]。

本研究使用的10个指标中, CML组在Neu%、Eos%、CD10%、CD38%、Baso%、CD56%、CD64⁺CD16⁻%、CD15⁺CD11b⁺%指标上与非CML组存在差异($p < 0.05$)。上述10个指标均为判断粒细胞分化的指标, 并未在其他白血病中作为诊断标志物。分开来看, 一般随着中性粒细胞成熟, CD38⁺、CD64⁺CD16⁻比例降低; CD56是粒细胞发育异常比较常见的标志。故CD38⁺、CD64⁺CD16⁻与CD56⁺细胞在中性粒细胞的比例增加, 说明中性粒细胞分化出现异常, CML可能性增大。CD10⁺细胞除在急性淋巴细胞白血病的异常细胞群出现外, 也会在分化良好的成熟中性粒细胞出现, 故CD10⁺细胞占中性粒细胞比例与CML呈负相关^[14], 在判断

表3 所有指标的基础统计信息
Table 3 Basic statistical information of all markers

组	仪器	指标	Neu%	Eos%	CD10 ⁺ %	CD38 ⁺ %	Baso%	CD56 ⁺ %	CD64 ⁺ CD16 ⁻ %	CD15 ⁺ CD11b ⁺ %	CD34 ⁺ %	CD34 ⁺ CD117 ⁺ %
CML组	BD	例数	408	408	408	408	408	408	408	408	408	408
		平均值	86.25	3.21	28.62	13.94	3.42	16.39	47.51	58.24	1.14	66.01
		中位数	87.38	3.00	27.94	12.61	2.46	10.18	48.90	58.82	0.68	69.85
		标准差	6.14	1.89	9.88	7.77	2.98	16.09	9.66	13.83	1.36	17.94
		95%CI下限	85.65	3.03	27.66	13.19	3.13	14.82	46.57	56.90	1.01	64.26
	95%CI上限	86.85	3.40	29.58	14.70	3.71	17.95	48.45	59.59	1.27	67.75	
	BC	例数	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
		平均值	86.79	2.96	28.25	13.01	3.36	18.32	48.24	57.90	1.08	64.47
		中位数	87.79	2.63	26.37	11.85	2.14	13.79	48.35	61.10	0.83	64.78
		标准差	6.88	1.78	9.12	7.97	4.74	17.43	9.50	18.61	0.96	12.81
95%CI下限		85.36	2.59	26.36	11.36	2.38	14.71	46.27	54.05	0.88	61.81	
95%CI上限	88.21	3.33	30.14	14.66	4.34	21.93	50.20	61.75	1.28	67.12		
总体	例数	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
	平均值	86.35	3.17	28.55	13.77	3.41	16.74	47.65	58.18	1.13	65.73	
	中位数	87.52	2.92	27.57	12.32	2.41	10.66	48.77	59.27	0.71	68.32	
	标准差	6.28	1.87	9.73	7.80	3.37	16.34	9.62	14.80	1.29	17.11	
	95%CI下限	85.80	3.00	27.70	13.08	3.11	15.30	46.80	56.88	1.02	64.22	
95%CI上限	86.90	3.33	29.41	14.46	3.70	18.18	48.49	59.48	1.24	67.22		
非CML组	BD	例数	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88
		平均值	65.18	3.16	52.54	5.05	1.20	4.56	28.68	72.50	1.00	62.38
		中位数	68.34	1.72	50.60	4.11	0.57	1.68	29.43	78.87	0.56	63.26
		标准差	17.79	6.11	22.71	3.93	2.16	8.86	16.84	21.09	1.83	22.16
		95%CI下限	61.41	1.87	47.73	4.22	0.75	2.68	25.11	68.03	0.61	57.69
	95%CI上限	68.95	4.46	57.35	5.89	1.66	6.43	32.24	76.97	1.39	67.08	
	BC	例数	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
		平均值	56.79	2.36	47.87	5.69	0.78	1.63	23.30	82.43	0.49	68.23
		中位数	62.27	0.97	46.07	6.23	0.42	1.16	22.89	82.41	0.36	66.26
		标准差	18.73	4.46	18.03	2.50	0.77	1.25	12.99	8.42	0.44	11.77
95%CI下限		47.47	0.14	38.90	4.45	0.40	1.01	16.84	78.25	0.27	62.38	
95%CI上限	66.10	4.58	56.84	6.93	1.17	2.25	29.76	86.62	0.71	74.09		
总体	例数	106	106	106	106	106	106	106	106	106	106	
	平均值	63.75	3.02	51.75	5.16	1.13	4.06	27.76	74.19	0.92	63.38	
	中位数	66.98	1.47	49.69	4.26	0.55	1.55	29.13	80.60	0.53	65.15	
	标准差	18.14	5.86	21.98	3.72	1.99	8.15	16.32	19.85	1.69	20.83	
	95%CI下限	60.26	1.90	47.52	4.44	0.75	2.49	24.62	70.36	0.59	59.36	
95%CI上限	67.25	4.15	55.98	5.88	1.52	5.63	30.91	78.01	1.24	67.39		

注:95%CI,95%置信区间。

CML急变时可将其作为CML急淋变的诊断依据。CD15⁺CD11b⁺细胞一般为分化成熟的中性粒细胞^[15],但其AUC、灵敏度均较小,在鉴别CML和非CML中诊断意义较小,未出现在回归方程中。

中性粒细胞和嗜碱性粒细胞增高是CML明显

的临床特征,其在公式中与CML皆为正相关的关系。虽然CML-CP中也会存在嗜酸性粒细胞增高的现象^[16],但在本次研究中,CML-CP嗜酸性粒细胞的AUC、灵敏度及特异性均较低,故未出现在方程中。需要指出的是,虽然全血细胞计数也可以对

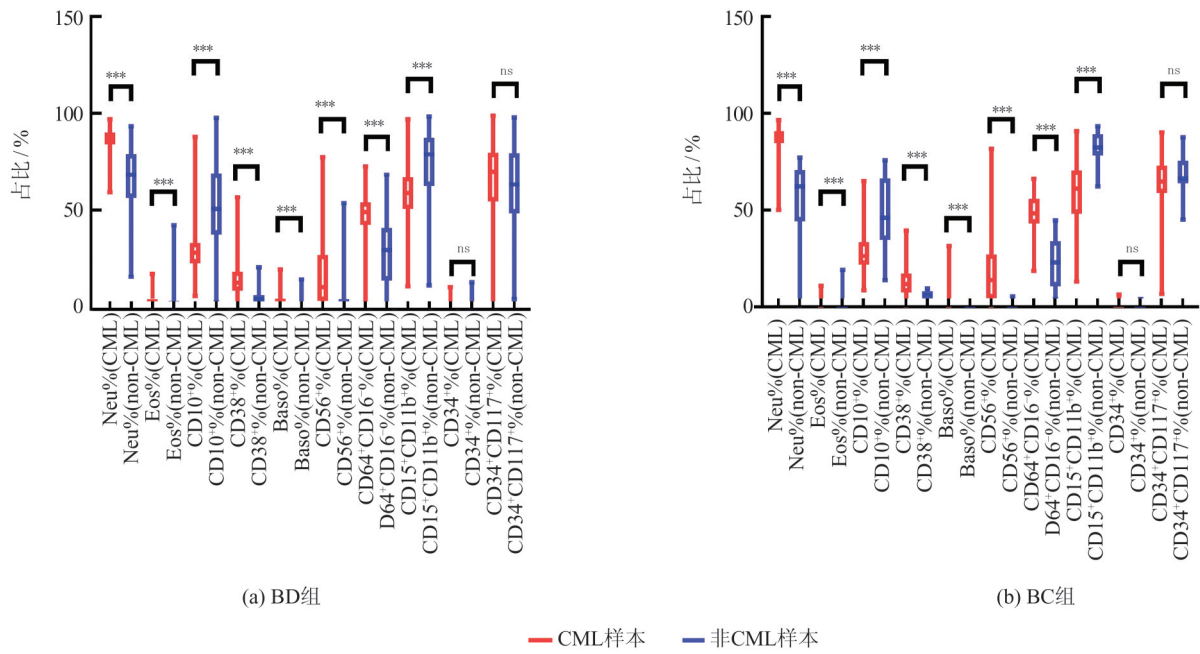


图4 不同仪器检测结果的比较分析

Fig. 4 Comparative analysis of detection results of different instruments

注:“ns”表示为无统计学差异;“***”表示 $p < 0.01$ 。

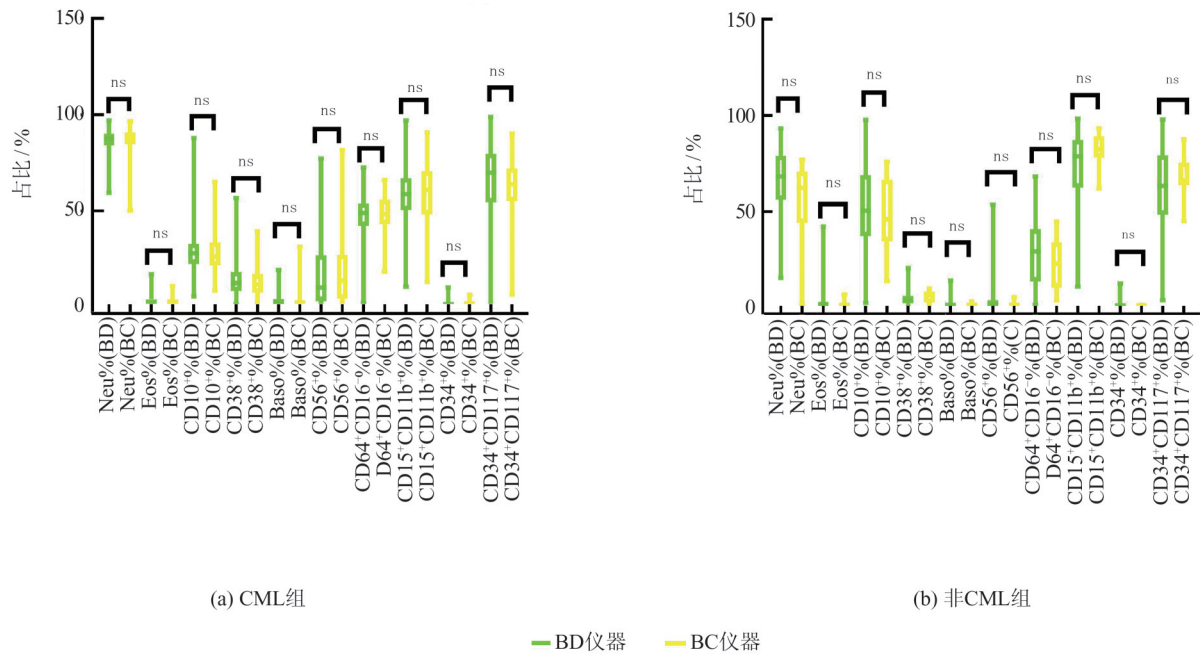


图5 不同组别检测结果的比较分析

Fig. 5 Comparative analysis of detection results for different groups

注:“ns”表示为无统计学差异;“***”表示 $p < 0.01$ 。

中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及嗜碱性粒细胞进行分类,但在识别早期粒细胞的分化过程中,流式细胞术对粒细胞的分类要优于全血细胞计数^[17]。而 CD34⁺及 CD34⁺CD117⁺/CD34⁺均为研究原始细胞标志^[18,19],本研究中,CML-CP 及非 CML 组在原始细胞方面未见明显差异,但在本方法中引进了这两项

指标,可在 CML 急变时进行监控并确定分期,这也是临床中本文方法相对于 BCR::ABL 检测的优势。

BD 与 BC 是临床检测推荐的两家国际仪器厂商^[20],其中 BD FACS Canto 和 BC DxFlex 是被广泛应用于流式血液疾病免疫分型检测的机型。两者在本研究的 10 个指标中均无统计学差异 ($p > 0.05$),

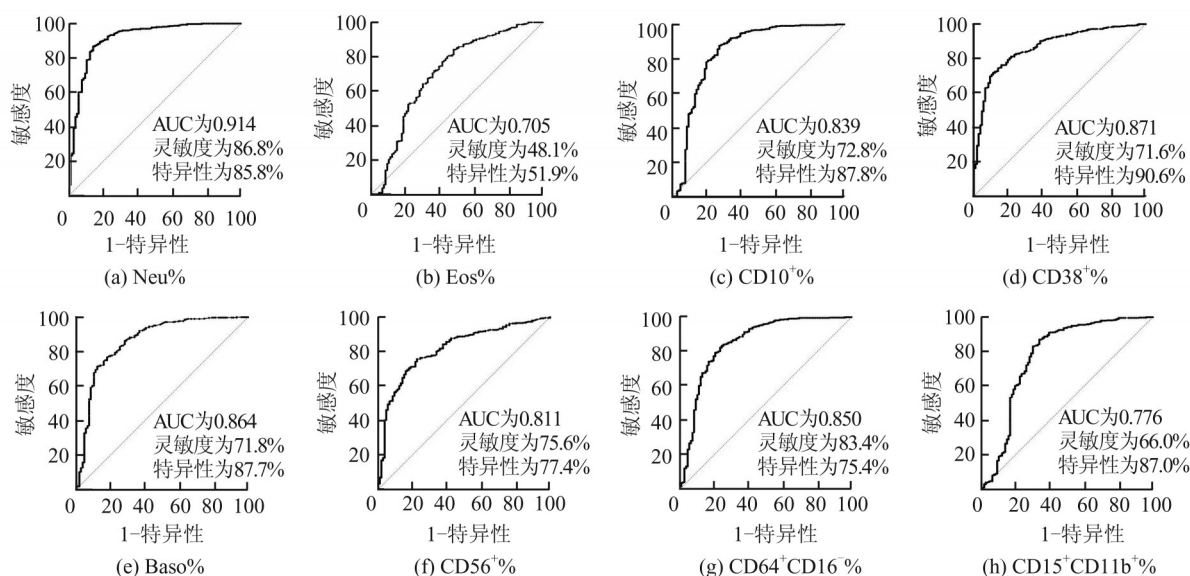


图6 关键指标的ROC分析

Fig. 6 ROC analysis of key indicators

注:(1)Neu%的ROC图(AUC=0.914,灵敏度和特异性分别是86.8%和85.8%);(2)Eos%的ROC图(AUC=0.705,灵敏度和特异性分别是48.1%和51.9%);(3)CD10%的ROC图(AUC=0.839,灵敏度和特异性分别是72.8%和87.8%);(4)CD38%的ROC图(AUC=0.871,灵敏度和特异性分别是71.6%和90.6%);(5)Baso%的ROC图(AUC=0.864,灵敏度和特异性分别是71.8%和87.7%);(6)CD56%的ROC图(AUC=0.811,灵敏度和特异性分别是75.6%和77.4%);(7)CD64⁺CD16⁻%的ROC图(AUC=0.850,灵敏度和特异性分别是83.4%和75.4%);(8)CD15⁺CD11b⁺%的ROC图(AUC=0.776,灵敏度和特异性分别是66.0%和87.0%)

表4 使用logistic回归分析的系数
Table 4 Result of logistic regression

参数	数值	标准误	Wald系数	显著性	Exp(B)	Nagelkerke R ²
Neu/%	0.300	0.047	40.743	0.000	1.350	
CD38 ⁺ /%	0.194	0.089	4.730	0.030	1.214	
Baso/%	0.705	0.180	15.373	0.000	2.023	
CD56 ⁺ /%	0.055	0.024	5.196	0.023	1.056	0.908
CD64 ⁺ CD16 ⁻ /%	0.119	0.027	19.105	0.000	1.126	
常数	-30.816	4.526	46.369	0.000	0.000	

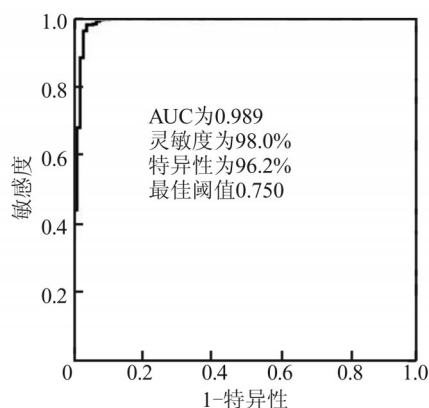


图7 方程的ROC分析

Fig. 7 The ROC for CML flowscore

这与之前的研究结论一致^[21]。

通过流式细胞术分析对CML-CP的诊断进行方程构建,本研究构建了用于CML判断的方程,该方程有极高R²(0.908),准确率为97.9%,同时通过ROC分析,其AUC达到0.989,其特异性为96.2%。利用这11种抗体构建的CMLflowscore积分能有效地对CML慢性期进行鉴别,并由于引进了原始细胞的相关抗体,所以能对CML急变期进行预警,故在临床中,特别是疾病初步诊断,该方法是一种新颖且有前景的方法。

本研究确定了流式细胞术诊断CML-CP的重要标志物,并制定了诊断公式。建议在初次会诊时,将CMLflowscore作为疑似CML的辅助诊断方法。此外,利用本研究中概述的公式模型和panel,流式

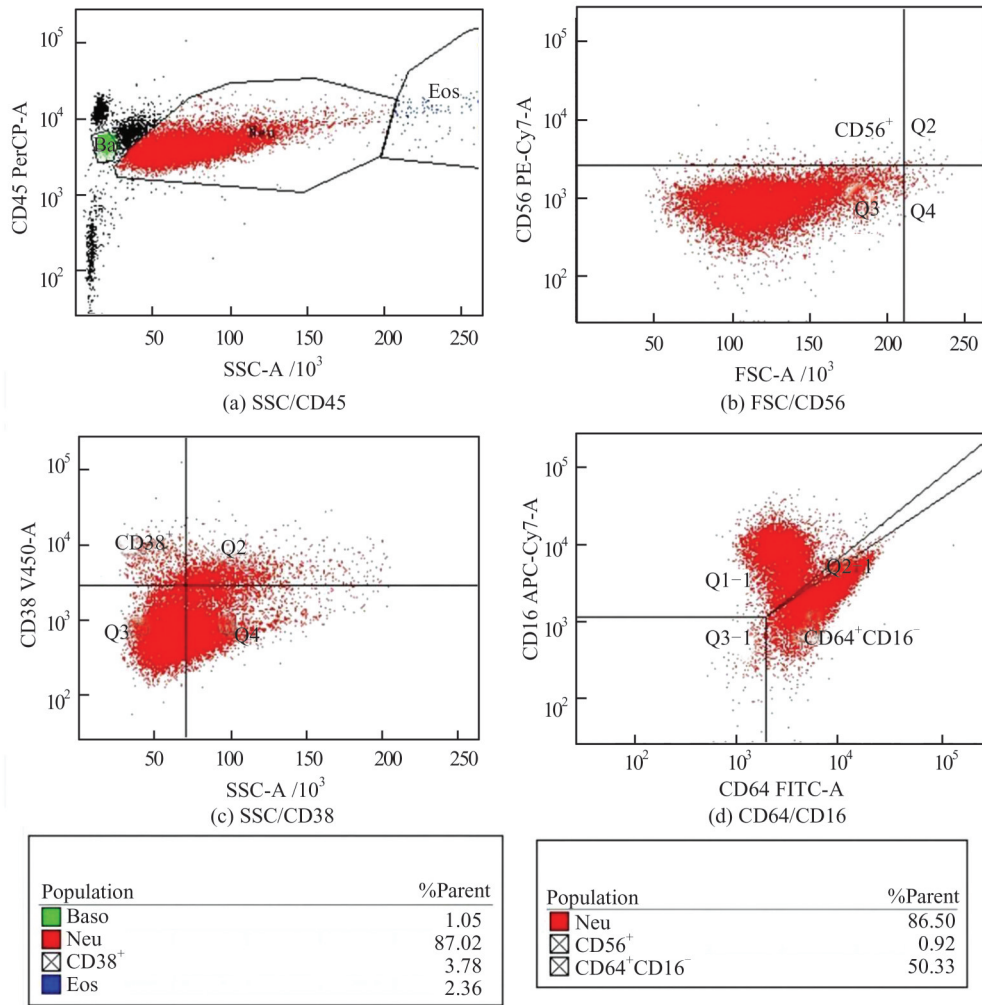


图8 使用 CMLflowscore 诊断 CML 一例

Fig. 8 A case of CML diagnosis by using CMLflowscore

注: Neu%=87.02, CD38%=3.78, Baso%=1.05, CD56%=0.92, CD64⁺CD16⁻%=50.33, CMLflowscore=2.05>0

Note: Neu%=87.02, CD38%=3.78, Baso%=1.05, CD56%=0.92, CD64⁺CD16⁻%=50.33, CMLflowscore is 2.05>0

细胞术可以在 CML 诊断和治疗的所有阶段发挥关键作用。

参考文献

[1] Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring [J]. American Journal of Hematology, 2020, 95(6): 691-709.

[2] Eşkazan A E, Ali R, Alnigeniş E, et al. Patient characteristics and management practices in chronic myeloid leukemia in Turkey: reflections from an expert meeting [J]. Expert Review of Hematology, 2022, 15(2): 97-106.

[3] Riva G, Nasillo V, Ottomano A M, et al. Multiparametric flow cytometry for MRD monitoring in hematologic malignancies: clinical applications and new challenges[J]. Cancers, 2021, 13(18): 4582.

[4] 陈倩,朱淑敏,黄世佳,等. 牛磺熊去氧胆酸抑制两种病毒的研究[J]. 生物资源, 2021, 43(1): 50-56
Chen Q, Zhu S M, Huang S J, et al. Study of the inhibitory effect of Tauroursodeoxycholic acid on two kinds of virus [J]. Biotic Resources, 2021, 43(1): 50-56.

[5] 李俊,熊峰. 澳洲茄边碱通过 Caspase3 蛋白诱导人肺癌 A549 细胞的凋亡作用[J]. 生物资源, 2016, 38(3): 21-24.
LI J, Xiong F. Apoptosis of human lung adenocarcinoma A549 cells induced by solamangine through activation of Caspase3 protein[J]. BIOTIC RESOURCES, 2016, 38(3):21-24.

[6] Blackburn L M, Bender S, Brown S. Acute leukemia: diagnosis and treatment[J]. Seminars in Oncology Nursing, 2019, 35(6): 150950.

[7] Apperley J F. Chronic myeloid leukaemia[J]. Lancet, 2015, 385(9976): 1447-1459.

[8] Khoury J D, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition

- of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms[J]. *Leukemia*, 2022, 36(7): 1703-1719.
- [9] Sharma P, Sachdeva M U S, Naseem S, *et al.* Identification of peripheral blood CD26⁺ leukemic stem cells has a potential role in the rapid diagnosis of chronic myeloid leukemia[J]. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2022, 44(3): 518-523.
- [10] Valent P, Sadovnik I, Ráčil Z, *et al.* DPPIV (CD26) as a novel stem cell marker in Ph⁺ chronic myeloid leukaemia[J]. *European Journal of Clinical Investigation*, 2014, 44(12): 1239-1245.
- [11] Barnes D J, Melo J V. Cytogenetic and molecular genetic aspects of chronic myeloid leukaemia[J]. *Acta Haematologica*, 2002, 108(4): 180-202.
- [12] Hoffmann V S, Baccarani M, Hasford J, *et al.* The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries[J]. *Leukemia*, 2015, 29(6): 1336-1343.
- [13] 王建祥, 黄晓军, 吴德沛, 等. 中国15家医院慢性粒细胞白血病发病状况及目前诊断治疗模式调查分析[J]. *中华血液学杂志*, 2009, 30(11): 721-725.
Wang J X, Huang X J, Wu D P, *et al.* Overview of chronic myelogenous leukemia and its current diagnosis and treatment patterns in 15 hospitals in China[J]. *Chinese Journal of Hematology*, 2009, 30(11): 721-725.
- [14] Liu M, Wang G, Wang L, *et al.* Immunoregulatory functions of mature CD10⁺ and immature CD10⁻ neutrophils in sepsis patients[J]. *Frontiers in Medicine*, 2023, 9: 1100756.
- [15] Blanco-Camarillo C, Alemán O R, Rosales C. Low-density neutrophils in healthy individuals display a mature primed phenotype[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 672520.
- [16] Rossi AR, Sgherza N, Breccia M, *et al.* Clinical and biological features of Ph plus chronic myeloid leukemia (CML) long survivor patients (more than 15 years)[J]. *Haematologica*, 2012, 97:312-312.
- [17] Lawrence S M, Eckert J, Makoni M, *et al.* Is the use of complete blood counts with manual differentials an antiquated method of determining neutrophil composition in newborns?[J]. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 2015, 45(4): 403-413.
- [18] Arruda L C M, Stikvoort A, Lambert M, *et al.* A novel CD34-specific T-cell engager efficiently depletes acute myeloid leukemia and leukemic stem cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Haematologica*, 2022, 107(8): 1786-1795.
- [19] Modvig S, Wernersson R, Obro N F, *et al.* High CD34 surface expression in BCP-ALL predicts poor induction therapy response and is associated with altered expression of genes related to cell migration and adhesion[J]. *Molecular Oncology*, 2022, 16(10): 2015-2030.
- [20] Glier H, Heijnen I, Hauwel M, *et al.* Standardization of 8-color flow cytometry across different flow cytometer instruments: a feasibility study in clinical laboratories in Switzerland[J]. *Journal of Immunological Methods*, 2019, 475: 112348.
- [21] McLaughlin B E, Baumgarth N, Bigos M, *et al.* Nine-color flow cytometry for accurate measurement of T cell subsets and cytokine responses. Part II I: panel performance across different instrument platforms[J]. *Cytometry A*, 2008, 73(5): 411-420.

□

(编辑: 杨晓翠 肖展春)