

- ment of mild-to-moderate Alzheimer's disease: a European Multicentre Trial[J]. *Clin Drug Investig*, 2001, 21(9): 621-632.
- 11 Wang BS, Wang H, Wei ZH, et al. Efficacy and safety of natural acetylcholinesterase inhibitor huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease: an updated meta-analysis[J]. *J Neural Transm*, 2009, 116(4): 457-465.
 - 12 Li J, Wu HM, Zhou RL, et al. Huperzine A for Alzheimer's disease[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, (2): CD005592.
 - 13 Ihl R, Bachinskaya N, Korczyn AD, et al. Efficacy and safety of a once-daily formulation of Ginkgo biloba extract EGb 761 in dementia with neuropsychiatric features: a randomized controlled trial[J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2011, 26(11): 1186-1194.
 - 14 吴康宁, 李友坪, 陈大联, 等. 银杏叶提取物联合消栓通络片治疗脑血管性痴呆[J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2014, 32(1): 10-12.
 - 15 刘勇, 冯秀华. 天智颗粒治疗轻、中度阿尔茨海默病临床研究[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2011, 14(12): 3-5.
 - 16 杨海燕. 天智颗粒联合哈伯因治疗老年性痴呆的临床观察[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2010, 13(10): 23-25.
 - 17 田金洲, 时晶, 苗迎春. 参乌胶囊治疗轻度认知损害: 一项随机双盲平行对照临床试验[C]. 2009全国抗衰老与老年痴呆学术会议论文集, 2009.
 - 18 周婧. 参乌胶囊治疗老年性痴呆脾肾两虚痰浊血瘀证的Ⅲ期临床研究[D]. 湖北中医学院, 2009.
 - 19 Tian J, Shi J, Zhang L, et al. GEPT extract reduces Abeta deposition by regulating the balance between production and degradation of Abeta in APPV7171I transgenic mice[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2009, 6(2): 118-131.
 - 20 Tian J, Shi J, Zhang XK, et al. Herbal therapy: a new pathway of the treatment for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2010, 2(5): 30-33.
 - 21 Mishra S, Palanivelu K. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview[J]. *Ann Indian Acad Neurol*, 2008, 11(1): 13-19.
- [收稿日期 2014-07-01][本文编辑 谭毅 刘京虹]

新进展综述

流式细胞术监测白血病微小残留病变的应用

阳文捷(综述), 谭毅(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院血液内科

作者简介: 阳文捷(1974-), 女, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 血液肿瘤的临床与基础研究。E-mail: yangwenjiebb@163.com

[摘要] 临床用于检测白血病微小残留病变的方法中, 以流式细胞术最为方便、快速、精确且特异性高。该文对其在监测白血病治疗后的微小残留病变中的应用作一简要介绍。

[关键词] 流式细胞术; 白血病; 微小残留病变

[中图分类号] R 55 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)12-1177-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.12.29

The application of flow cytometry in the monitor of minimal residual disease in leukemia YANG Wen-jie, TAN Yi. Department of Hematology, the People's Hospital of Guanxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Flow cytometry (FCM) is the most convenient, rapid, accurate and high specificity in all method for monitoring the minimal residual disease (MRD) in leukemia in clinical work. In this paper, the application of FCM in the monitor MRD in leukemia after treatment was briefly reviewed.

[Key words] Flow cytometry; Leukemia; Minimal residual disease (MRD)

目前认为微小残留病变(minimal residual disease, MRD)是引起急性白血病复发的根源, 既往临床检查MRD的方法准确性差。近年来, 流式细胞术(flow cytometry, FCM)的应用给MRD的监测带来了新的希望。

1 MRD 在白血病中的意义

急性白血病是一种高度异质性的造血系统恶性肿瘤, 它具有起病急, 增殖迅速, 对化疗敏感的特点, 经治疗后有相当一部分病例能获得完全缓解。但是急性白血病的长期生存率不尽人意, 其原因在于它

缓解时间短,复发率高。而 MRD 被认为是白血病复发的根源。急性白血病发病时白血病细胞大约为 $10^{12}/L$, 治疗达完全缓解后(目前临床判断缓解是根据症状、体征的消失、血象恢复正常、急性白血病骨髓细胞学计数中原始和幼稚细胞百分比 $<5\%$), 骨髓中白血病细胞 $<5\%$, 体内仍有 $10^8 \sim 10^{10}$ 白血病细胞, 这部分细胞即为通过传统的形态学方法不能测出的体内存在的微量白血病细胞, 即 MRD^[1]。MRD 可以理解为是即使经过放、化疗及造血干细胞移植等治疗, 均未能达到清除性效果时, 患者体内残留的白血病细胞或肿瘤细胞的状态。为提高治愈率, 减少复发可能, 延长缓解时间, 针对这部分细胞的治疗成为临床医师提高白血病治疗效果的重点。进行 MRD 检测将为白血病患者缓解后维持治疗的时间、治疗方案的制定和治疗强度的调整以及判断预后提供科学依据^[2-4]。

2 MRD 的检查方法

对于临床上已经取得完全缓解的患者, 传统的检测 MRD 的方法有骨髓细胞学检查和骨髓组织病理检查, 其结果的判断是建立在宏观的细胞形态学基础上, 故其结果精确性和灵敏度差, 特异性不高, 而且还经常受到取材优劣的影响。白血病预后的判断主要依靠患者的染色体核型分析, 发病时状态等, 但是染色体检查阳性率低, 技术难度大。FCM 是荧光显微镜的延伸, 将标本中的细胞用荧光标记, 制备悬液后, 可测定每个细胞形态大小及荧光特征, 达到进行细胞表面标志的测定。它能在功能水平上对单细胞或其他生物粒子进行定量分析和分选, 具有敏感、快速、精密度高和准确性好的特点。白血病相关免疫表型(leukemia associated immune phenotypes, LAIP) 见于 50% 以上的白血病细胞, LAIP 是白血病细胞的特征性的标志, 所以可以成为检查白血病细胞的依据。根据白血病细胞与正常细胞表面标志的不同, 用 FCM 进行免疫表型分析已成为鉴别正常细胞和白血病细胞的重要手段^[5], 目前设定 LAIP 细胞 $>0.1\%$ 为 MRD 阳性。FCM 进行白血病 MRD 检测能达到 $10^{-4} \sim 10^{-5}$, 其敏感度非常高, 使 FCM 进行 MRD 的监测成为可能^[6]。目前检测 MRD 较为理想的方法有三种, 包括荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)以及 FCM, 目前认为免疫学流式细胞术法和分子生物学多重酶链反应技术是检测 MRD 最有效的方法。FCM 可对 80% 的急性白血病患者检出 MRD, 有研究^[7]显示两种方法已获得非常

好的相关性。Zhang 等^[8]同步检测并随访了 45 例完全缓解的急性早幼粒细胞白血病患者的骨髓标本, 发现 FCM 和 PCR 的方法检测相同标本的 MRD 的阳性例数分别为 19 例和 7 例, 随访结果也表明流式细胞方法检查的 MRD 与生存时间是相关的, 说明 FCM 的敏感性更高。而且 FCM 检测 MRD 相比 PCR 检测 MRD 具有更加方便快速的特点, 易在临床推广使用。

3 FCM 监测白血病 MRD 的临床应用

FCM 在临床已经得到广泛应用。Kerst 等^[9]分别用 FCM 和实时定量 PCR 检测 45 例儿童急性淋巴细胞白血病患者的 MRD 水平情况, 结果 FCM 能检测到 0.01% 水平的残留白血病细胞, 发现 MRD 存在 41 例(91%), 用 PCR 发现的 MRD 为 38 例(84%); 而且用 FCM 发现基因重排的敏感性高于 PCR, 通过随访检测 105 例患者, 发现两者对 MRD 的检测结果呈一致性, 无差异。一些研究^[10-12]也显示急性淋巴细胞白血病患者巩固治疗末 MRD 水平是其最显著的预后因素, 他们认为 MRD 检测对骨髓移植的急性淋巴细胞白血病患者是非常有益的。接受 T 细胞清除移植的患者, 同种异基因移植前 MRD 阴性可能与好的预后显著相关, 2 年无复发生存率 $>70\%$ 。同种异基因移植前 MRD 低水平阳性($10^3 \sim 10^5$)患者 2 年无复发生存率为 35% ~ 50%。MRD 高水平阳性移植后均出现复发。因此移植前有必要对患者进行 MRD 检测, 以调整治疗方案和判断预后。Couston-Smith 等^[13]研究了 195 例初诊儿童急性淋巴细胞白血病患者, 于诱导治疗结束后, 以及持续治疗过程中规律持续检测 MRD, 发现检出 MRD 且 $>10^{-4}$ 者, 意味着高复发。San Miguel 等^[14]采用 FCM 对 126 例完全缓解后的骨髓进行 MRD 检测, 将不同水平的 MRD 进行分层分析, 结果提示 MRD 水平高低与无复发生存率及总生存率呈负相关。也就是说, 用 FCM 进行 MRD 的监测将为白血病患者完全缓解后的个体化分层治疗带来依据。Irving 等^[7]比较了实时定量 PCR 和 FCM 检测儿童急性淋巴细胞白血病 MRD, 同样得出结论, 两种检测方法具有很高的相关性。徐燕丽等^[15]根据白血病患者初发治疗前的白血病免疫分型结果, 分别采用相应的单克隆抗体 FCM 检测, 于诱导缓解后 2 ~ 3 周分别用 FCM 动态监测了 33 例急性髓性白血病患者外周血和骨髓中的残留白血病细胞, 并在以后的 4 ~ 8 周复查残留白血病细胞, 其中 13 例复发的患者骨髓和血液中的白血病细胞与 20 例处于缓解期的患者相比, 细胞数

目水平有显著差异。而且非白血病患者正常对照组与缓解期的患者相比,他们的白血病细胞水平也呈现出显著差异。这说明 FCM 监测缓解后患者的 MRD 的细胞水平可判断其复发及预后。研究还发现此结果的时间较骨髓细胞形态学早 4~8 周。这有助于在缓解后治疗的早期进行 MRD 检测,以彻底清除肿瘤细胞,延长缓解时间以达到治愈。万岁桂等^[16]采用多参数流式细胞仪对 41 例急性髓性白血病诱导化疗达完全缓解后的患者,分别进行巩固治疗前以及巩固治疗 2 疗程后的 MRD 水平检测,发现巩固治疗前 MRD 为阳性的 24 例患者 18 例出现了复发;而巩固治疗前 MRD 阴性的 17 例患者仅有 5 例复发,巩固治疗前 MRD 阳性和阴性的两组患者的平均生存期也存在着显著差异。巩固治疗后 MRD 仍为阳性者有 18 例,均出现复发;MRD 阴性者 23 例中仅有 5 例复发;可见,用 FCM 对巩固治疗前后进行 MRD 水平监测均能作为急性髓性白血病彻底治疗的依据。Venditti 等^[17]研究了 56 例急性髓性白血病患者,通过 FCM 动态监测在诊治过程中 MRD,发现成人急性髓性白血病患者治疗后 MRD $> 4.5 \times 10^4$ 的阳性细胞与治疗不良预后显著相关,而巩固治疗末 MRD $> 3.5 \times 10^4$ 与复发相关,巩固治疗末 MRD $> 3.5 \times 10^4$ 能强烈预测复发,这部分患者的复发率高达 77%,但是他们却有着高的无复发生存率。即使对这些患者进行骨髓或造血干细胞移植治疗,也不能改变巩固治疗末 MRD 高水平对预后的影响。因此,对巩固治疗末 MRD 的控制是完全缓解白血病患者取得长期生存的目标。Kern 等^[18]研究也得出相同的结论,即急性髓性白血病患者治疗末 MRD 与预后有强烈的相关性。在进行造血干细胞移植方面,MRD 检测对于评价患者移植前后复发风险、指导治疗的方案有重要作用。传统的判断移植后预后的方法是通过 PCR 的方法进行异基因检测。近年的 FCM 发展,可能通过 FCM 检测 MRD 来替代这一方式。有学者^[19]研究了 31 例行骨髓移植的儿童急性淋巴细胞白血病患者,在移植前 10 d 采用多参数流式细胞术检测 MRD,发现有 21 例为 MRD 阴性,10 例为阳性,两者无事件生存率和总生存率分别为 74%:20% 以及 80%:20%。MRD 阳性者的复发和死亡风险也显著高于 MRD 阴性的患者。这一结果与 PCR 进行移植后的预测是一致的。施晓兰等^[20]采用 FCM 动态检测 90 例高危急性白血病患者就移植前 1 个月、移植后 1 个月、2 个月、100 d 以及移植后第 6、9、12 个月进行 MRD (共 6

次)监测,发现移植前的 MRD 水平与移植后患者的预后无明显关系。而移植后 100 d 90 例患者 MRD 高水平组与低水平组相比,复发率分别为 36.67% 和 12.50%;1 年的总生存率、无复发生存率均存在区别。即使是在移植前高水平的患者,在移植后 100 d 也能达到稳定的低水平,建议把移植后 MRD 水平作为判断预后的标准,并可按照移植 100 d 的 MRD 水平作为患者的危险分层,以进一步干预治疗,可以避免治疗不足,影响疗效及过度治疗引起的不必要的毒性反应等。还有学者^[21]建议在急性白血病移植后联合使用传统的 PCR 方法检查嵌合体和多参数流式细胞方法检查移植后 MRD,对于复发的预测和预后判断,尽早干预治疗更有意义。

4 结语

FCM 目前已经广泛用于科研与临床,其在监测白血病 MRD 的应用上要取代传统的方法,还需临床医师积累更多的医学循证证据。

参考文献

- 1 张之南,沈 悌.血液病诊断及疗效标准[M].第3版.北京:科学出版社,2007:106-115.
- 2 Nyvold C, Madsen HO, Ryder LP, et al. Precise quantification of minimal residual disease at day 29 allows identification of children with acute lymphoblastic leukemia and an excellent outcome[J]. Blood, 2002, 99(4):1253-1258.
- 3 Dworzak MN, Frosch L G, Printz D, et al. Prognosis significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Blood, 2002, 99(6):1952-1958.
- 4 Spinelli O, Peruta B, Tosi B, et al. Clearance of minimal residual disease after allogeneic stem cell transplantation and the prediction of the clinical outcome of adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia[J]. Haematol, 2007, 92(5):612-618.
- 5 Dworzak MN, Fritsch G, Fleischer C, et al. Comparative phenotype mapping of normal vs malignant pediatric B-lymphopoiesis unveil leukemia-associated aberrations[J]. Exp Hematol, 1998, 26(4):305-313.
- 6 Ciudad J, San Miguel JF, Lopez-Berges MC, et al. Prognostic value of immunophenotypic detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia[J]. J Clin Oncol, 1998, 16(12):3774-3781.
- 7 Irving J, Jesson J, Virgo P, et al. Establishment and validation of a standard protocol for the detection of minimal residual disease in B lineage childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry in a multi-center setting[J]. Haematol, 2009, 94(6):870-874.
- 8 Zhang Y, Tian LP, Zhang Y, 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.
- 9 Kerst G, Kreyenberg H, Roth C, et al. Concurrent detection of mini-

- mal residual disease (MRD) in childhood acute lymphoblastic leukaemia by flow cytometry and real-time PCR[J]. *Br J Haematol*, 2005, 128(6): 774 - 782.
- 10 Hoelzer D, Gkbuget N, Ottmann O, et al. Acute lymphoblastic leukemia[J]. *Hematology*, 2002, 11(6): 162 - 169.
- 11 Yeoh AE, Ariffin H, Chai EL, et al. Minimal residual disease-guided treatment deintensification for children with acute lymphoblastic leukemia; results from the malaysia-singapore acute lymphoblastic leukemia 2003 study[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(19): 2384 - 2392.
- 12 Bassan R, Spinelli O, Oldani E, et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. *Blood*, 2009, 113(18): 4153 - 4162.
- 13 Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(8): 2691 - 2696.
- 14 San Miguel JF, Vidriales MB, Lopez-Berges C, et al. Early immunophenotypic evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification[J]. *Blood*, 2001, 98(6): 1746 - 1751.
- 15 徐燕丽, 张学忠, 张 磊, 等. 急性髓系白血病完全缓解患者残留白血病细胞检测研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2004, 12(6): 858 - 860.
- 16 万岁桂, 赵 弘, 孙雪静, 等. 多参数流式细胞术对急性髓系白血病微小残留病变与疾病复发的监测[J]. *中国实验血液学杂志*, 2009, 17(3): 557 - 562.
- 17 Venditti A, Buccisano F, Del Poeta G. Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(12): 3948 - 3952.
- 18 Kern W, Voskova D, Schoch C, et al. Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in unselected patients with acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2004, 104(10): 3078 - 3085.
- 19 Elorza I, Palacio C, Dapena JL, et al. Relationship between minimal residual disease measured by multiparametric flow cytometry prior to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and outcome in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2010, 95(6): 936 - 941.
- 20 施晓兰, 唐晓文, 魏孝艾, 等. 微小残留病变检测在急性高危及白血病异基因造血干细胞移植中的意义[J]. *中华医学杂志*, 2011, 91(38): 2692 - 2696.
- 21 Rossi G, Carella AM, Minervini MM, et al. Minimal residual disease after allogeneic stem cell transplant: a comparison among multiparametric flow cytometry, *wilms tumor 1* expression and chimerism status (complete chimerism versus low level mixed chimerism) in acute leukemia[J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(12): 2660 - 2666.

[收稿日期 2014-05-19][本文编辑 谭毅 吕文娟]

新进展综述

子宫肌瘤治疗的研究进展

韦海棠, 刘妮平(综述), 陈昌益(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院妇产科

作者简介: 韦海棠(1985-), 女, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 妇科肿瘤的诊治。E-mail: 292598496@qq.com

通讯作者: 刘妮平(1976-), 女, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 妇科肿瘤的诊治。E-mail: nizi007@163.com

[摘要] 子宫肌瘤是女性生殖器最常见的良性肿瘤。它好发于生育年龄, 严重影响育龄期妇女的身心健康。近年来子宫肌瘤的治疗越来越受到重视。该文就子宫肌瘤治疗的研究进展作一综述。

[关键词] 子宫肌瘤; 治疗; 病因学

[中图分类号] R 711 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2014)12 - 1180 - 04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.12.30

Research on treatment of uterine myomas WEI Hai-tang, LIU Ni-ping, CHEN Chang-yi. Department of Obstetrics and Gynaecology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Uterine myomas are the most common benign tumors of female genital, they occur commonly in the child-bearing age, and seriously affect the physical and mental health of women of childbearing age. Recently, more and more attention is paid to treatment of uterine myomas. Here a review is made on the reasearch progress of treatment of uterine myomas.

[Key words] Uterine myomas; Treatment; Etiology