综述

微小残留病变检测在儿童急性白血病中的应用

程艳芹 综述 翟晓文 审校

(上海市复旦大学附属儿科医院血液内科, 上海 201102)

[摘要] 近年来, 儿童急性白血病(AL)治疗效果随化疗方案的改进和危险分层治疗的引入取得很大进展。但微小残留病变(MRD)仍然是影响AL预后的一大难题。MRD水平影响化疗方案的选择、复发风险的分级, 同时还可用于判断预后。目前检测MRD的方法主要有流式细胞术(FCM)和PCR。随着二代测序技术(NGS)的不断成熟与发展, 其在MRD检测尤其在干细胞移植(SCT)后MRD检测方面扮演着重要角色。本文对微小残留病变检测在儿童急性白血病中的应用进行综述。 [中国当代儿科杂志, 2018, 20(5): 416-420]

[关键词] 急性白血病; 微小残留病变; 预后; 二代测序; 儿童

Clinical application of minimal residual disease detection in childhood acute leukemia

CHENG Yan-Qin, ZHAI Xiao-Wen. Department of Hematology, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China (Email: zhaoxiaowendy@163.com)

Abstract: In recent years, great progress has been made in the treatment outcome of childhood acute leukemia with the improvement of chemotherapy regimens and the introduction of risk-stratified therapy; however, minimal residual disease (MRD) is still a difficult problem which affects the prognosis of acute leukemia. MRD influences the selection of chemotherapy regimens and recurrence risk stratification, and meanwhile, it can be used for prognostic prediction. At present, flow cytometry and polymerase chain reaction are mainly used for MRD detection. The next-generation sequencing also plays an important role in MRD detection, especially in MRD detection after stem cell transplantation. This article reviews the methodology and significance of MRD detection in childhood acute leukemia.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(5): 416-420]

Key words: Acute leukemia; Minimal residual disease; Prognosis; Next-generation sequencing; Child

急性白血病(acute leukemia, AL)是儿童时期最常见的肿瘤之一, 分为急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukaemia, ALL)和急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)两大类^[1-4]。AL诊断时体内白血病细胞总数约 10^{12} , 诱导化疗达到完全缓解后, 白血病细胞总数 $<10^9$, 这种体内残存的少量白血病细胞称为白血病微小残留病变(minimal residual disease, MRD)。MRD不能通过形态学方法检测, 复发亦或是干细胞移植(stem cell transplantation, SCT)前后, MRD水平均可作为强有力的预后判断因素^[5-6]。而早期治疗反应主

要利用形态学予以评估, 反映白血病细胞对化疗的敏感性^[7-8]。目前, MRD在ALL和AML中都得到广泛地应用^[9]。SCT是高危/复发AL患儿的治疗选择之一, 在可检测到MRD的患儿中, SCT后复发风险较高^[2,10]。因此, MRD可作为AL的独立预后因素, 还可在骨髓细胞学改变之前判断复发及评估SCT前白血病疾病负担^[7,11]。目前MRD常用检测方法有流式细胞术(flow cytometry, FCM)和PCR; 二代测序(next-generation sequencing, NGS)在MRD检测方面得到进一步应用, 但成本较高, 也缺乏大宗数据, 临床应用有限。

[收稿日期] 2018-01-31; [接受日期] 2018-03-13

[基金项目] 上海市科委重大课题子课题(14411950603)。

[作者简介] 程艳芹, 女, 硕士研究生。

1 检测方法

在 ALL 患者中, 当 MRD $\geq 10^{-4}$ 时, FCM 和 PCR 的检测效力相当^[11-13]。FCM 对每个细胞进行检测, 允许识别小亚群, 分析速度快、操作简单、价格便宜, 应用更广泛。但 FCM 分析往往需要很专业的知识, 而 PCR 结果相对容易标准化、易解读^[5,12]。FCM 检测 MRD 主要通过基因融合、突变、过度表达的转录本和 ALL 白血病相关免疫表型 (leukemia associated immunophenotype, LAIP) 获得^[3,12]。四色 FCM 可检测到 95% 患者的白血病免疫表型, 50% 的患者敏感度可达 10^{-4} 。随着多参数流式细胞术不断发展, 采用 FCM 检测 MRD 几乎适用于所有 AML 病例^[3,14]。尽管 PCR 检测 AML 患者 MRD 的灵敏度高, 可达 10^{-4} ~ 10^{-6} , 但仅 40% 的患者具有适合的基因标记, 如 AML1-ETO、CBFB-MYH11 或 MLL 重组基因产物等, 限制了应用^[14-15]。

1.1 FCM

FCM 检测 MRD 的原理是利用白血病细胞异常免疫表型与正常细胞的区别, 检测 LAIP 及这些异常免疫表型光散射特性, 敏感性在 10^{-4} ~ 10^{-5} 之间^[3,14,16-17]。ALL 白血病细胞可通过单克隆抗体与 FCM 可视化的独特细胞标志物结合而被识别^[18]。检测 AML 患者 MRD 的免疫标记包括 CD34、CD117 或 CD33, 联合一种髓系抗原 (CD33 或 CD13) 和 / 或 HLA-DR。目前, LAIP 评判包括抗原表达不同步、增强或减少、缺失以及跨系抗原表达等^[17]。

多色 FCM 是检测 ALL-MRD 的方法之一, 灵敏度达 10^{-4} ~ 10^{-5} ^[18]。三色 FCM 和四色 FCM 的引进改善了 FCM-MRD 的灵敏性和适用性^[19]。三色 FCM 仅在约 60% 的 ALL 患者中检测到异常免疫表型, 而四色 FCM 及新的标记物 (如 CD58/CD49) 使用后, FCM-MRD 的适用性 $>90\%$ ^[5-6]。目前已扩展到 6~9 色标记, 大大提高了 MRD 检测的灵敏度、准确度及适用性^[5,19-20]。多色标记为白血病细胞免疫表型提供综合性描述, 降低了识别难度^[12,21]。

LAIP 主要分为 3 类, 第 1 类是融合基因表达的融合蛋白, 如 ETV6-RUNX1、TCF3-PBX1 和 BCR-ABL1, 但目前缺乏适用于 FCM 检测的抗体。第 2 类是幼稚 T 细胞免疫表型。由于正常幼稚 T 淋巴细胞只存在胸腺中, 且 T-ALL 白血病细胞在

骨髓和外周血中的分布均匀^[3], 因此对于 T-ALL MRD 的检测不必依靠异常免疫表型的识别, 只要在骨髓或外周血中发现表达幼稚 T 细胞表型的细胞即可确认为 T-ALL 细胞。用于 T-ALL MRD 检测最常用的免疫表型组合为同时表达末端脱氧核苷酸转移酶 (terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT) 与 CD3; 或同时表达 TdT 与 CD5^[22], 以上表型组合也可作为 T 细胞淋巴瘤侵犯骨髓的标志。第 3 类 LAIP 只见于 B-ALL。B-ALL MRD 检测远比 T-ALL 复杂, 主要依靠异于正常前体 B 淋巴细胞的 LAIP^[6,23]。随着新指标的不断发现, FCM 检测 LAIPs 几乎可以覆盖所有 ALL^[18]。

1.2 PCR

ALL 患者使用 PCR 检测 MRD 时, 常选择免疫球蛋白 (Ig) 和 / 或 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 基因重排序列作为标志。ALL 白血病细胞是从单个早期病变淋巴细胞发展而来, 因此大多数具有克隆性 Ig 基因和 / 或 TCR 基因重排, 约 90% 儿童 ALL 患者存在适于 MRD 检测的重排基因, 该方法敏感性达 10^{-4} ^[5,12,23]。白血病细胞重排的 Ig/TCR 基因 V (D) J 结合部序列具有白血病克隆特异性, 与正常淋巴细胞结合部序列不同, 而非淋巴细胞无 Ig/TCR 基因重排。融合基因 (如 BCR-ABL1、MLLAFF1、TCF3-PBX1 及 ETV6-RUNX1 等) 及其 mRNA 转录本可作为 ALL 白血病细胞区别于正常细胞的分子标志, 但仅约 40% 的 ALL 患者具有融合基因, 应用较局限^[5,12,23]。

在 AML 患者中, 约 40% 可检测到融合基因转录本如 RUNX1-RUNX1T1 (AML1-ETO)、CBFB/MYH11 和 MLL 基因重排, 灵敏度达 10^{-4} ; FLT3 内部串联重复突变及 RAS 突变也可作为 MRD 检测靶点, 但易产生假阴性; NPM1 基因突变也可作为 PCR 检测靶点, 和 Ig 及 TCR 基因重排一样仅在 10% AML 患者中检测到, 因此应用于局限^[24-25]。在 AML 中 WT1 基因可过表达, 通过 PCR 检测其水平可作为评估 MRD 的选择, 但儿童 AML WT1 基因过表达的比例和 PCR 检测的灵敏度有待明确^[3]。目前 AML 儿童 MRD 常用检测方法是 RQ-PCR, 检测异常融合基因转录本, 敏感性达 10^{-6} , 但融合基因发生率较低, 该技术在 AML 患者中仅有 25% 应用率^[3]。

1.3 NGS

SCT后B淋巴细胞大量增殖,应用PCR和FCM方法检测ALL患者MRD有假阳性可能,而NGS检测可更精确^[18-19,26]。NGS通过使用一套通用引物,避免了引物设计和测试患者特异性重排的复杂过程,灵敏度接近 10^{-6} ,结果更准确^[27]。

Wu等^[28]对儿童B-ALL患者治疗前和治疗29天后均进行FCM和IgH-NGS测序,在98例患者中92例检出IgH重排;所有FCM检测的MRD阳性患者NGS检测也阳性,但68例FCM检测阴性的患者中NGS检测29例阳性并且MRD水平在FCM的灵敏度范围内。Kotrova等^[26]收集两组接受SCT的ALL儿童(30例患者,228例次样本),第一组包括17例在SCT后获得长期CR的患者,而该组患者在SCT后qPCR-MRD检测中至少存在一次阳性($<0.01\%$)结果,27例qPCR阳性标本中只有一例被NGS证实为阳性;另一组13名患者SCT后出现复发,15例qPCR-MRD检测阳性标本中10例NGS检测也为阳性($P=0.002$)。提示NGS对于SCT后的MRD检测特异性更高。

2 检测时点

2.1 儿童 ALL-MRD 的检测时点

ALL患者通常在诱导缓解治疗期末(end of induction, EOI)和缓解后的不同时间检测MRD^[12]。EOI MRD阴性的患者缓解期较长,因此对于此类患者继续进行多次MRD检测的意义存在争议^[12]。有研究认为EOI和强化治疗期末(end of consolidation, EOC)MRD水平对于ALL患儿预后有很强预测价值^[2,11]。T-ALL患者,血液或骨髓的MRD对于预后均有指导意义;而B-ALL仅早期(第8天)外周血MRD水平对结局具有预测意义^[11-12]。有研究报道:EOI(33d)MRD水平对B-ALL预后判断更有价值,而EOC(78d)MRD水平对T-ALL预后判断更有意义^[29-30]。目前针对ALL-MRD检测时点尚无共识。

2.2 儿童 AML-MRD 的检测时点

关于AML-MRD检测时点的研究相对较少。有研究认为,AML患者最佳MRD检测时点是诱导缓解治疗后,可识别出不良反应者和需要移植的患者^[12]。关于AML MRD检测时点的选择需要多

中心研究进一步明确。

3 MRD 检测对预后判断的价值

3.1 MRD 检测对 ALL 预后判断的价值

MRD为ALL患儿危险分层提供了重要依据。与基于骨髓形态学的早期反应评估相比,MRD提供更为精准的预后预测,对治疗方案的选择也具有决定性价值。近来,MRD评估在很大程度上取代了形态学评估在风险分组中的应用^[30]。

MRD是儿童ALL有力的独立预后因素,对预测初发ALL患者预后及首次复发后诱导方案的选择有重要价值。Vora等^[31]研究表明,依据MRD水平确定的风险状况是与预后相关的独立因素,MRD低风险组5年累计复发率为4.0%,MRD高风险组则为15.0%。徐瑞琴等^[4]研究表明,62例ALL患者中,MRD $>10^{-3}$ 者复发高于MRD $\leq 10^{-3}$ 者,而复发率与性别、年龄、是否为难治性无关;不论ALL还是AML,MRD $\geq 10^{-2}$ 患者的复发早于MRD $\leq 5 \times 10^{-3}$ 和 $5 \times 10^{-3} < \text{MRD} < 10^{-2}$ 。可见MRD水平与ALL患者复发、及复发时点等高度相关。

在ALL患者中,EOI MRD阴性患者的复发率微乎其微,而EOI MRD $>10^{-4}$ 患者的复发率超过20%^[31]。Pui等^[32]研究表明,诱导缓解第19天MRD $\geq 1\%$ 的患者与更低水平MRD患者相比,10年EFS显著下降;12名第19天MRD $\geq 1\%$ 、但第46天转阴的低风险组患者的10年EFS高于第46天未转阴者;而第19天MRD低于1%的患者,无论第46天MRD水平如何,都有较好的预后。

Eckert等^[33]发现,在诱导缓解期和强化期以 10^{-4} 、 10^{-3} 或 10^{-2} 3个临界点定义MRD,以 10^{-3} 作为MRD临界点可更好地预测ALL预后。

3.2 MRD 对 AML 预后判断的临床价值

近40年来,随着AML治疗的不断改进,80%患者达到长期存活,但复发仍有很大比例^[14,34]。近年来研究证实,骨髓中白血病细胞的动态削减和MRD水平可用于判断AML患者预后,评估复发风险。Karol等^[35]研究表明,诱导缓解I期后,MRD阴性患者的5年DFS和OS高于MRD阳性患者;II期诱导缓解治疗后,MRD阴性患者的5年DFS优于MRD阳性患者。徐瑞琴等^[4]研究表明,不论性别、年龄、难治性,诱导期末MRD $>10^{-3}$ 者

复发多于 MRD $\leq 10^{-3}$ 者。

3.3 MRD 对于 SCT 患者预后判断的临床价值

SCT 是复发 / 难治 AL 患者治疗方案之一, 但复发仍是影响生存率的主要因素^[36]。移植前 MRD 持续存在或高水平是预后不良的危险因素^[12,26,33]。MRD 检测在成人 SCT 应用于以下方面: 检测移植植物中是否有 MRD 来评估骨髓、外周血的净化程度, 移植前后动态检测 MRD 以判断预后^[37]。但 MRD 在儿童 SCT 的临床研究尚少。

3.3.1 SCT 前 MRD 水平对预后的影响 SCT 前 MRD 水平对 ALL 患者预后的影响大于 AML 患者^[36,38-39]。Eckert 等^[33]选用 10^{-3} 作为 MRD 临界点, 将 SCT 前 MRD $>10^{-3}$ 判断为持续存在, 发现 SCT 前 MRD 持续存在患者的 DFS 和 OS 较低, 而且遭遇后续事件的概率较高。Gandemer 等^[10]报道, 在儿童 ALLSCT 患者中, SCT 前 MRD $\geq 10^{-3}$ 是 OS 的独立影响因素。SCT 前 MRD 水平对 SCT 后复发、OS、DFS 等均有预示作用。Umeda 等^[36]发现, ALL 患者 SCT 前 MRD 阴性组的 3 年 DFS 和 OS 高于 MRD 阳性组、累积复发率较低; 而 AML 患者的 3 年 DFS、OS 和累积复发率在 SCT 前 MRD 阳性或阴性组之间的差异无统计学意义。

3.3.2 SCT 后 MRD 水平对预后的影响 目前对于 SCT 后 MRD 的预后价值存在争议。BMT 报道, 21 例移植后患者中 11 例经 RQ-PCR 检测出 MRD 阳性, 但随访 (最少随访 1 年, 平均 46 个月) 中该组患者并无复发与恶化, 分析 MRD 阳性的原因是生理性淋巴细胞的非特异性增殖^[19,40]。也有研究表明, 与移植后 MRD 阴性患者相比, 移植后 MRD 阳性患者预后均较差^[19]。Bernal 等^[41]根据 SCT 后 100 天的 MRD 水平将 AML 或骨髓异常增生综合征患者分组, 发现 MRD 阳性患者的 2 年累积复发率高于 MRD 阴性患者; 2 年 EFS、OS 较低。

4 总结及展望

目前大多数 AL 患儿能够达到长期存活, 但仍有复发风险, 复发主要与 MRD 有关。ALL 或 AML 患者的 MRD 由阴性转为阳性或者 MRD 水平进一步升高提示复发可能性大^[12]。目前 ALL 已建立较完善的 MRD 监测体系, 而监测 AML-MRD 的标准依然需多中心研究来进一步确定。SCT 是复发 / 难

治 AL 患者的主要治疗方法, 但移植后复发仍是最大困扰, SCT 前 MRD 水平对移植后预后判断有重要价值, 但 SCT 后由于供者白细胞大量增殖限制了 MRD 的预测价值。NGS 技术已用于 MRD 检测, 特异度和灵敏度较 FCM、PCR 更高, 对于 SCT 后的 MRD 检测价值更大。希望 MRD 检测方法不断进步, 提高灵敏度和特异性, 为临床服务。

[参 考 文 献]

- [1] Bartram J, Wade R, Vora A, et al. Excellent outcome of minimal residual disease-defined low-risk patients is sustained with more than 10 years follow-up: results of UK paediatric acute lymphoblastic leukaemia trials 1997-2003[J]. Arch Dis Child, 2016, 101(5): 449-454.
- [2] Athale UH, Gibson PJ, Bradley NM, et al. Minimal residual disease and childhood leukemia: standard of care recommendations from the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group[J]. Pediatr Blood Cancer, 2016, 63(6): 973-982.
- [3] Campana D. Progress of minimal residual disease studies in childhood acute leukemia[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2010, 5(3): 169-176.
- [4] 徐瑞琴, 陆小云, 张敏. 急性白血病缓解期微小残留病灶与预后的关系 [J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(3): 209-212.
- [5] Denys B, van der Sluijs-Gelling AJ, Homburg C, et al. Improved flow cytometric detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Leukemia, 2013, 27(3): 635-641.
- [6] Karawajew L, Dworzak M, Ratei R, et al. Minimal residual disease analysis by eight-color flow cytometry in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Haematologica, 2015, 100(7): 935-944.
- [7] Cheng SH, Lau KM, Li CK, et al. Minimal residual disease-based risk stratification in Chinese childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry and plasma DNA quantitative polymerase chain reaction[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e69467.
- [8] 卢新天. 儿童急性白血病预后影响因素 [J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(15): 1155-1158.
- [9] Rocha JM, Xavier SG, de Lima Souza ME, et al. Current strategies for the detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2016, 8(1): e2016024.
- [10] Gandemer V, Pochon C, Oger E, et al. Clinical value of pre-transplant minimal residual disease in childhood lymphoblastic leukaemia: the results of the French minimal residual disease-guided protocol[J]. Br J Haematol, 2014, 165(3): 392-401.
- [11] Campana D. Minimal residual disease[J]. Leukemia Supplements, 2012(1): S3-S4.
- [12] Campana D, Coustan-Smith E. Measurements of treatment response in childhood acute leukemia[J]. Korean J Hematol, 2012, 47(4): 245-254.

- [13] Brüggemann M, Schrauder A, Raff T, et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: Proceedings of the Second International Symposium on MRD Assessment in Kiel, Germany, 18–20 September 2008[J]. *Leukemia*, 2010, 24(3): 521-535.
- [14] Anthias C, Dignan FL, Morilla R, et al. Pre-transplant MRD predicts outcome following reduced-intensity and myeloablative allogeneic hemopoietic SCT in AML[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2014, 49(5): 679-683.
- [15] Martelli MP, Sportoletti P, Tiacci E, et al. Mutational landscape of AML with normal cytogenetics: Biological and clinical implications[J]. *Blood Rev*, 2013, 27(1): 13-22.
- [16] 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]. *Int J Hematol*, 2017, 105(6): 784-791.
- [17] 常英军, 赵晓甦. 多参数流式细胞仪检测急性髓细胞白血病微小残留病: 挑战与对策[J]. *临床荟萃*, 2016, 31(6): 581-584.
- [18] Getta BM, Devlin SM, Levine RL, et al. Multicolor flow cytometry and multigene next-generation sequencing are complementary and highly predictive for relapse in acute myeloid leukemia after allogeneic transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(7): 1064-1071.
- [19] Balduzzi A. Minimal residual disease assessment by next-generation sequencing. Better tools to gaze into the crystal ball?[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2017, 52(7): 952-954.
- [20] 郭青, 金润铭. 微小残留病检测指导白血病治疗的研究进展[J]. *中国实用儿科杂志*, 2016, 31(4): 264-268.
- [21] Coustan-Smith E, Campana D. Immunologic minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia: a comparative approach to molecular testing[J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2010, 23(3): 347-358.
- [22] Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML. Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2002, 100(7): 2399-2402.
- [23] 徐翀, 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): 342-347.
- [24] Malagola M, Skert C, Borlenghi E, et al. Postremission sequential monitoring of minimal residual disease by WT1 Q-PCR and multiparametric flow cytometry assessment predicts relapse and may help to address risk-adapted therapy in acute myeloid leukemia patients[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(2): 265-274.
- [25] Wang L, Gao L, Xu S, et al. High prognostic value of minimal residual disease detected by flow-cytometry-enhanced fluorescence in situ hybridization in core-binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML)[J]. *Ann Hematol*, 2014, 93(10): 1685-1694.
- [26] Kotrova M, van der Velden VHJ, van Dongen JJM, et al. Next-generation sequencing indicates false-positive MRD results and better predicts prognosis after SCT in patients with childhood ALL[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2017, 52(7): 962-968.
- [27] Sekiya Y, Xu Y, Muramatsu H, et al. Clinical utility of next-generation sequencing-based minimal residual disease in paediatric B-cell acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2017, 176(2): 248-257.
- [28] Wu D, Emerson RO, Sherwood A, et al. Detection of minimal residual disease in B lymphoblastic leukemia by high-throughput sequencing of IGH[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(17): 4540-4548.
- [29] Schrappe M, Valsecchi MG, Bartram CR, et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study[J]. *Blood*, 2011, 118(8): 2077-2084.
- [30] Teachey DT, Hunger SP. Predicting relapse risk in childhood acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2013, 162(5): 606-620.
- [31] Vora A, Goulden N, Wade R, et al. Treatment reduction for children and young adults with low-risk acute lymphoblastic leukaemia defined by minimal residual disease (UKALL 2003): a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(3): 199-209.
- [32] Pui C, Pei D, Coustan-Smith E, et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(4): 465-474.
- [33] Eckert C, Hagedorn N, Sramkova L, et al. Monitoring minimal residual disease in children with high-risk relapses of acute lymphoblastic leukemia: prognostic relevance of early and late assessment[J]. *Leukemia*, 2015, 29(8): 1648-1655.
- [34] Salah-Eldin M, Abousamra NK, Azzam H. Clinical significance of minimal residual disease in young adults with standard-risk/Ph-negative precursor B-acute lymphoblastic leukemia: results of prospective study[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(5): 938.
- [35] Karol SE, Coustan-Smith E, Cao X, et al. Prognostic factors in children with acute myeloid leukaemia and excellent response to remission induction therapy[J]. *Br J Haematol*, 2015, 168(1): 94-101.
- [36] Umeda K, Iwai A, Kawaguchi K, et al. Impact of post-transplant minimal residual disease on the clinical outcome of pediatric acute leukemia[J]. *Pediatr Transplant*, 2017, 21(4): e12926.
- [37] 冯建华, 汤永民, 徐晓军. 流式细胞仪检测儿童急性髓系白血病微小残留病的研究进展[J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(3): 231-234.
- [38] Balduzzi A, Di Maio L, Silvestri D, et al. Minimal residual disease before and after transplantation for childhood acute lymphoblastic leukaemia: is there any room for intervention?[J]. *Br J Haematol*, 2014, 164(3): 396-408.
- [39] Leung W, Pui CH, Coustan-Smith E, et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia[J]. *Blood*, 2012, 120: 468-472.
- [40] Fronkova E, Muzikova K, Mejstrikova E, et al. B-cell reconstitution after allogeneic SCT impairs minimal residual disease monitoring in children with ALL[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2008, 42(3): 187-196.
- [41] Bernal T, Diez-Campelo M, Godoy V, et al. Role of minimal residual disease and chimerism after reduced-intensity and myeloablative allo-transplantation in acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome[J]. *Leuk Res*, 2014, 38(5): 551-556.

(本文编辑: 俞燕)