

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.14.017

荧光原位杂交技术在慢性淋巴细胞白血病遗传学异常检测中的应用

唐芳蓉^{1,2} 董惠芬¹ 王海燕² 海 洋² 阎 瑞²

(1 武汉大学基础医学院 湖北 武汉 430072; 2 宜昌市中心人民医院 湖北 宜昌 443000)

摘要 目的: 分析在荧光原位杂交技术慢性淋巴细胞白血病遗传学异常检测中的应用, 并分析相关指标在评价患者预后中的应用。**方法:** 对我院收治的 45 例初诊 CLL 患者采用荧光原位杂交技术进行特异性探针 D13S25(13q14.3)、RB1(13q14)、p53(17p13)、ATM(11q22.3)、以及 CSP12(12 号染色体 3 体)染色体标本检测, 分析 CLL 患者遗传学异常的发生率。采用实时定量 PCR 检测 miR-15a 和 miR-16-1 与 CLL 患者遗传学异常的相关性。**结果:** 45 例 CLL 初诊患者中, 荧光原位检测发现 CLL 遗传学异常 37 例, CLL 遗传学异常率 82.22%。其中 d(13q14.3)遗传异常 13 例, d(13q14)遗传异常 7 例, d(11q22-23)遗传异常 6 例, d(17p13)遗传异常 5 例, 12 号染色体三体异常 6 例, 遗传学异常多呈异质性。实时定量 PCR 检测发现 miR-15a 和 miR-16-1 与 d(13q14)遗传异常显著相关。**结论:** 荧光原位杂交技术是一种检测 CLL 遗传学异常的快速、灵敏方法, 可以提高 CLL 遗传异常检出率。miR-15a 和 miR-16-1 可以预测 d(13q14)遗传异常 CLL 患者预后。

关键词: 慢性淋巴细胞白血病; 荧光原位杂交; 遗传学差异

中图分类号: R733.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)14-2679-04

Cytogenetics Aberrations Detected by Interphase Fluorescence in Situ Hybridization in Chronic Lymphocytic Leukemia

TANG Fang-rong^{1,2}, DONG Hui-fen¹, WANG Hai-yan², HAI Yang², YAN Ru²

(1 School of Basic Medical, Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430072, China;

2 Yichang People's Hospital, Yichang, Hubei, 443000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the clinical value of fluorescence in situ hybridization (FISH) in the detection of genomic aberration in chronic lymphocytic leukemia (CLL). **Methods:** FISH was used for 45 patients who were newly diagnosed as CLL in our hospital. Five types of fluorescence probes with labeled DNA probes were included as sequence specific probes: D13S25 for 13q14.3, P53 for 17p13.1, ATM for 11q22.3, RB1 for 13q14 and chromosomes 12 and the incidence of cytogenetics aberrations in CLL was analyzed. The expression of miR-15a and miR-16-1 in CLL patients was tested via quantitative polymerase chain reaction (Q-RT-PCR). **Results:** The results showed that in 45 patients, 37 cases (82.22%) were abnormal including 13 cases of D13S25 deletion, 7 RB1 deletion, 6 ATM deletion, 5 P53 deletion and 6 cases of trisomia 12. The abnormal rate of cytogenetics aberrations in CLL was 82.22%. normalized The expression levels of miR-15a and miR-16-1 in the patients with d(13q14) were significantly higher than the control group. **Conclusion:** The FISH is efficient and may improve the detectable rate of chromosomal abnormalities in CLL. Detection of miR-15a and miR-16-1 can be applied in evaluating the prognosis of CLL with 13q14 deletion.

Key words: Chronic lymphocytic leukemia; Fluorescence in situ hybridization; Cytogenetics aberrations

Chinese Library Classification(CLC): R733.72 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)14-2679-04

前言

慢性淋巴细胞白血病(Chronic lymphocytic leukemia, CLL)是外周血、骨髓以及淋巴组织中 CD5+ B 细胞恶性增殖的血液系统疾病, 老年人群多发, 发病率随着年龄的增高而增多^[1-3]。慢性淋巴细胞白血病具有多种遗传学异常, 以缺失 13q14、13q14.3、11q22.3、17p13、+12 染色体三体遗传异常常见, 也存在 6q21 缺失、-12 等遗传异常情况^[4]。由于 CLL 细胞大多处于有丝分裂活性较低的 G0 期, 常规细胞遗传学 R 显带分析方法不能完全准确的反映核型状况^[5,6], 仅 20%-50% 的 CLL 患者可

以检测到克隆性染色体异常, 对疾病的诊断及预后作用提示较小。荧光原位杂交技术(Fluorescence in situ hybridization, FISH)不受细胞分裂相数量和质量的影响, 克服了常规染色体核型分析的局限性, 应用位点特异性探针检测可以对更多复杂染色体异常的确认, 大大提高 CLL 中异常染色体的检出率^[7-9]。由于 CLL 具有明显的临床异质性, 不同遗传异常患者生存期差异很大, 如何评估 CLL 患者预后也是临床需要解决的问题。本文应用荧光原位杂交技术, 利用 DNA 序列特异性组合探针检测 CLL 遗传学异常情况, 并评价不同遗传异常在 CLL 患者生存期及预后中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象

作者简介: 唐芳蓉 (1981-), 女, 大学本科, 医师, 主要从事慢性淋巴白血病方向的研究, E-mail: 1712264003@qq.com

(收稿日期: 2014-01-09 接受日期: 2014-01-30)

选取我院 2009 年 1 月至 2013 年 1 月收治的初诊 CLL 患者 45 例,其中男性 33 例,女性 12 例,年龄在 45-78 岁,平均年龄 65 岁。CLL 初诊参照《血液病诊断及疗效标准》,临床表现、血象、骨髓象及免疫表型特征符合其诊断标准;实验室检查外周血 WBC $>10 \times 10^9/L$,淋巴细胞比例 $\geq 50\%$;骨髓增生活跃,淋巴细胞 $>40\%$,以成熟淋巴细胞为主。Binet 分期,A 期 27 例,B 期 12 例,C 期 6 例。对照组选取 10 例健康人的骨髓细胞。

1.2 方法

采用荧光原位杂交技术(FISH),应用 5 种序列特异性探针 D13S25 (13q14.3)、RB1 (13q14)、p53 (17p13)、ATM (11q22.3)、以及 CSP12 (12 号染色体 3 体)对 45 例慢性淋巴细胞白血病患者进行分子细胞遗传学异常检测,探针以缺口平移法采用红色荧光素标记(美国 Ambion)。取出 -20°C 冻存的染色体标本,气干法滴片, 37°C $2 \times \text{SSC}$ 中老化 30 min,依次用 70%、85%、100% 的乙醇湿度梯度脱水,每个梯度 2 min。在变性液(含 70%甲酰胺的 $2 \times \text{SSC}$)中 72°C 变性 5 min 后 70%、85%、100%的冰乙醇再次梯度脱水,自然晾干。2 μL 荧光标记探针、5 μL 杂交缓冲液、1 μL 去离子水混匀,与 72°C 水浴锅变性 10 min,再置于 37°C 水浴中退火 30min,混匀后立即加于标本玻片杂交区域内,盖上盖玻片,封片胶封片后置于 37°C 湿盒中孵育过夜(16-18h)。杂交后标本在 $2 \times \text{SSC}$ 中洗涤 5 min,0.1%吐温 100 室温洗涤 2 min,避光晾干后加二脒基苯基吡啶(DAPI)/抗淬灭剂(美国,Vysis)复染 15 min。用 Olympus BX60 型荧光显微镜(日本,Olympus)观察间期细胞的杂交信号,每例分析 200-300 个细胞,染色体自动分析系统 IMSTAR 进行图像采

集,所选细胞细胞核不能重叠细胞,细胞核边界清楚且结构完好,细胞周围无胞浆包绕。

1.3 qRT-PCR 检测 miR-15a 和 miR-16-1 表达情况

收集 d(13q14)CLL 遗传异常患者血液,提取血液 RNA,反转录后 TaqMan 定量 PCR 检测血液中 miR-15a 和 miR-16-1 含量。Q-PCR 反应体系为 20 L,其中无核酶 dd H_2O 7.67L, TaqMan 通用 PCR 预混物 10 L, TaqMan 引物 1L (上海英俊),反转录 cDNA1.33L,混匀后进行实时定量 PCR 反应(Roche, LightCycler 480)。反应条件为: 95°C 预变性 10 min, 95°C 15 s, 60°C 1 min, 40 个循环, 72°C 保存。每以健康人作阴性对照,每个试验样本三次重复。

1.4 统计学分析

使用 SPSS13.0 进行数据统计分析,计数资料比较采用卡方检验,计量资料组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异比较有统计学意义。

2 结果

2.1 正常对照组 FISH 阈值分析

将 10 例正常对照组标本进行 FISH 检测,每个标本计数 200 细胞,显示一个橘红色信号和一个绿色荧光信号的细胞记为阳性细胞,阳性细胞率大于对照组阳性细胞率平均值 +3 倍标准差为阳性病例判定阈值。探针阈值建立结果为 D13S25、RB1、ATM、P53 和 CSP12 的阈值分别为 4.90%、4.79%、4.13%、4.62%和 5.1%,以此阈值来判定患者的遗传学突变指标。

表 1 两组的各项临床特征比较

Table 1 Comparison of the Clinical characteristics between patients with and without DR

探针 Probe	样本数量(n) Sample size(n)	平均数($\bar{x}$) Mean ($\bar{x}$)	标准差(SD) Standard deviation(SD)	阈值($\bar{x}+3SD$) Threshold($\bar{x}+3SD$)
D13S25	10	1.93	0.99	4.90%
RB1	10	1.85	0.98	4.79%
ATM	10	1.64	0.83	4.13%
P53	10	1.71	0.97	4.62%
CSP12	10	2.32	1.11	5.65%

2.2 CLL 患者 FISH 检测结果

45 例 CLL 初诊患者 FISH 检测结果如下,共检出 CLL 遗传异常病例 37 例,CLL 遗传异常检出率为 82.22%。其中 13 例患者 D13S25 探针检测阳性,Binet 分期为 A 期 7 例,B 期 4 例,C 期 2 例。7 例患者 RB1 探针检测阳性,Binet 分期分别为 A 期 1 例,B 期 3 例,C 期 2 例。13 号染色体长臂缺失异常 CLL 患者中,其中有 3 例伴有 D13S25 和 RB1 缺失。6 例患者出现 ATM 杂合性缺失,其中有 1 例伴有 P53 异常,1 例伴有 13q14 缺失,Binet 分期为 A 期 1 例,B 期 3 例,C 期 2 例。5 例 17p13 核型异常,Binet 分期均为 C 期。6 例 12 号染色体三体异常,Binet 分期为 A 期 2 例,B 期 2 例,C 期 2 例。

2.3 d(13q14)CLL 患者 miR-15a 和 miR-16-1 表达情况

实时定量 PCR 对 7 例 13q14 缺失的 CLL 患者进行 miR-15a 和 miR-16-1 表达情况分析发现,13q14 缺失的 CLL 患

者血液中 miR-15a 和 miR-16-1 表达量较正常表达量升高 0.7-3.8 倍。

3 讨论

慢性淋巴细胞白血病是一种高度异质性的血液系统恶性疾病,具有显著的临床预后异质性。常规的细胞遗传学只能检测分裂中期细胞染色体异常,而且 CLL 细胞有丝分裂活性低,增值能力低下,如常规染色体 R 显带技术仅 20% 的 CLL 检测到克隆性染色体异常;在使用 B 细胞分裂增殖剂的情况下,约 50% CLL 可检测到克隆性染色体异常。对于间期细胞、复杂核型细胞和染色体微缺失无法进行诊断。荧光原位杂交技术可以克服常规核型分析的局限性,适用于分裂期细胞和间期细胞,可以鉴别很小的突变区域,大大提高 CLL 患者染色体异常的检出率,可以作为 CLL 诊断和判断预后的一项指标^[6]。

表 2 FISH 检测 CLL 初诊患者遗传学异常分析

Table 2 Cytogenetics aberrations tested via fluorescence in situ hybridization in newly diagnosed CLL

Cytogenetic Binet stage	d(13q14.3)	d(13q14)	d(11q22.3)	d(17p13)	+12
Binet stage	D13S25	RB1	ATM	P53	CSP
A 期 A stage	7	1	1	0	2
B 期 B stage	4	3	3	0	2
C 期 C stage	2	2	2	5	2

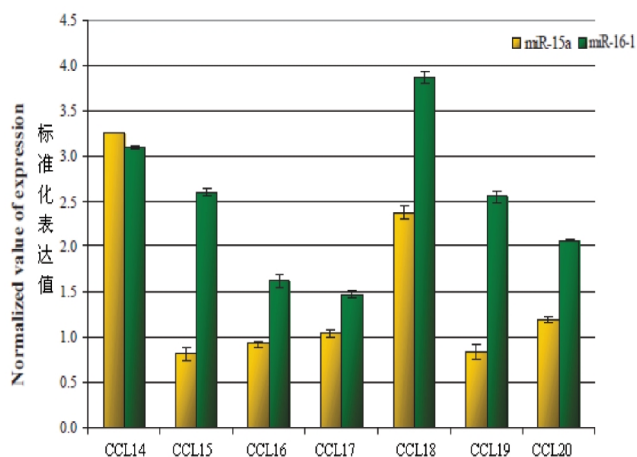


图 1 miR-15a (黄色) 和 miR-16-1 (绿色) 在 13q14 缺失 CLL 患者的表达情况

Fig.1 Expression of miR-15a (yellow) and miR-16-1 (green) in patients with 13q14 deletion

由于 CLL 具有多种遗传学异常,部分病例具有复杂核型异常,其中以 13 号染色体长臂缺失,11 号染色体长臂缺失,12 号染色体三体,17 号染色体断臂缺失常见,也存在 -12 异常,6q 缺失等^[7]。有研究认为各种分子遗传学异常与性别、年龄、Binet 分期、外周血淋巴细胞绝对计数、血清 LDH 和 B2- 微球蛋白、ZAP-70 表达水平无明显相关性,而 ATM 缺失与患者 CD38 表达和血红蛋白水平有无相关性,ATM 缺失阳性患者更易出现全身广泛性淋巴结肿大,影响患者预后^[8]。

本研究对我院 2008 年 1 月至 2013 年 1 月收治的 45 例 CLL 初诊患者进行遗传学异常分析及预后评估,选用了 D13S25 探针和 RB1 探针检测 13 号染色体长臂缺失,p53 检测 17p13 缺失,ATM 检测 11q22.3 缺失,CSP12 探针检测 12 号染色体 3 体。结果发现,共有 37 例 CLL 患者检测到不同类型的染色体异常,CLL 检出率 82.22%。

13q 缺失是 CLL 最常见的染色体异常,缺失区域为 13q14,可能伴随等位基因和非等位基因删除,以及更大片段缺失^[9]。本研究通过同时应用 RB1 和 D13S25 探针检测发现,其中 13 例患者 D13S25 探针检测阳性,7 例患者 RB1 探针检测阳性,其中有 3 例伴有 D13S25 和 RB1 缺失,其基因缺失片段可能为较长片段的缺失,13 号染色体长臂缺失 (13q14 和 13q14.3) 率为 54.0%;说明 13 号染色体长臂缺失是最常见的类型。梁兴林对 10 例 del(13q14.3) 异常患者的 Binet 分期分析发现,10 例 del(13q14.3) 患者中 5 例处于 A 期、3 例处于 B 期、2 例处于 C 期,此 2 例 C 期患者均伴有 del (17p13) 异常,del (13q14.3) 阳性在 Binet 分期中无显著性差异 ($P>0.05$)^[10]。经统计

分析,本实验中 17 例 13q 缺失 CLL 患者在不同性别、年龄及 Binet 分期中差异无统计学意义。

ATM 基因位于 11q22-23,编码磷脂酰肌醇 3 激酶,与信号转导和核定位信号有关,参与细胞周期调控、DNA 损伤信号的转导修复等过程。CLL 患者中,ATM 缺失的发生率约 12-20%,并且随着疾病进展也可能出现 ATM 缺失,因此 ATM 缺失与 CLL 疾病进展密切相关。本实验对 45 例 CLL 患者进行 ATM 基因缺失检测发现,有 6 例患者出现 ATM 杂合性缺失,有 1 例伴有 P53 异常,1 例伴有 13q14 缺失。Binet 分期,A 期 1 例,B 期 3 例,C 期 2 例,疾病进展较快。可能由于 ATM 缺失患者 CD38 高表达,血红蛋白水平高表达,ATM 缺失阳性患者更易出现全身广泛性淋巴结肿大,从而影响患者预后。

P53 基因位于 17p13,是一类重要的抑癌基因。P53 蛋白通过阻止损伤 DNA 的复制介导细胞的促凋亡机制,控制细胞增殖。17p13 缺失能导致 p53 基因正常功能受影响。本研究中 34 例 CLL 遗传异常患者中,检测出 5 例 17p13 核型异常,Binet 分期均为 C 期,患者的疾病进展较快,生存时间较短,说明 17p13 缺失预后不良。Wu 等对台湾地区 and 西方国家 CLL 患者遗传异常发生情况进行分析发现,17p 缺失缺失的 CLL 患者呈现较短生存期,这与我们结果是一致的^[11]。而 Teimori H 等对 CLL 患者的骨髓和血液进行研究认为 17p13 缺失预后良好^[12],这可能与区域差异及研究病例数量较少有关,17p13 缺失对预后影响有待进一步证实。

12 号染色体三体是最早发现的 CLL 细胞遗传学异常,常伴有其他核型异常,发生率 15% 左右。12 号染色体三体和 not 典型的形态学和免疫表型特征之间有明显相关性,与淋巴细胞增殖相关。本研究中,34 例 CLL 细胞遗传异常中有 6 例 CLL 患者显示 +12 号染色体三体异常,+12 核型异常率为 17.64%。经统计分析,Binet 分期为 A 期 2 例,B 期 2 例,C 期 2 例;年龄大于 60 岁患者 5 例,年龄小于 60 岁患者 1 例,年龄 >60 岁的患者 +12 阳性率显著高于 <60 岁患者,这与丛佳等原位杂交技术检测 84 例慢性淋巴细胞白血病遗传学异常发现结果一致^[13],说明,随着年龄的升高,+12 号染色体三体异常发病率增加,患者多预后不良。

CLL 具有明显的临床异质性,患者存活时间从几个月到几年不等,因此通过生物学标记物预测 CLL 患者预后在临床显得尤为重要。研究表明,免疫球蛋白重链基因可变区 (IGHV)^[14]、CD38、ZAP-70^[15]、乳酸脱氢酶 LDH、 β 2- 微球蛋白、BCL2 甲基化、融合基因 IGH/CCND1 在评价 CLL 预后中有重要价值^[16]。CLL 遗传学异常中以 13 号染色体长臂缺失最为常见,13q14 缺失和 13q14.3 缺失约占 CLL 遗传学异常的 50%。miR-15a 和

miR-16-1 为抑癌基因,定位于人的 13q14 号染色体,在肿瘤细胞表达下调或根本不表达,这种现象可能与 RB1 基因缺失和 Bcl2 基因负调控有关。因此,本实验中对 7 例 d(13q14)缺失 CLL 患者血液进行 miR-15a 和 miR-16-1 检测,以期寻找一种更为快速和稳定的 CLL 预后判定方法。本研究对 FISH 检测 13q14 缺失的 7 例 CLL 患者进行 miR-15a 和 miR-16-1 进行实时定量 PCR 检测发现,7 例 13q14 缺失患者 miR-15a 和 miR-16-1 表达较正常 miRNA(0.818 to 3.864)明显升高,而且不同 CLL 患者间差异显著,这可能与 CLL 患者为不同年龄、性别及遗传异常的异质性有关。由于实时定量 PCR 的敏感性和特异性,用 qRT-PCR 检测 d(13q14)缺失 CLL 患者对提示患者预后有更好的指导作用。

参考文献(References)

- [1] 陈蕾. 荧光原位杂交技术检测多发性骨髓瘤和慢性淋巴细胞白血病分子遗传学异常及其临床意义[D]. 华中科技大学, 2012
Chen Lei. Molecular cytogenetic abnormalities and clinical significance of Fluorescence in situ hybridization in the detection of multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia [D]. Huazhong university of science and technology, 2012
- [2] Zhang S, Yang ZG, Liu X, et al. Tuberculosis vs. chronic lymphocytic leukaemia in mediastinal lymph nodes using computed tomography[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2014, 18(2):211-215
- [3] Delgado J, Villamor N. Chronic lymphocytic leukemia in young individuals revisited [J]. Haematologica, 2014, 99(1):4-5
- [4] Kiefer Y, Schulte C, Tiemann M, et al. Chronic lymphocytic leukemia-associated chromosomal abnormalities and miRNA deregulation [J]. 2012, 12(5):21-28
- [5] 吴蔚, 顾健, 汪中强, 等. 染色体 R 显带和 FISH 技术在慢性淋巴细胞白血病诊断中的价值[J]. 临床血液学杂志, 2011, 24(5):314-315
Wu Wei, Gu Jian, Wang Zhong-qiang, et al. Value of chromosome R banding and FISH techniques in the diagnosis of chronic lymphocytic leukemia[J]. Journal of Clinical Hematology, 2011, 24(5): 314-315
- [6] Brejcha M, Stoklasová M, Brychtová Y, et al. Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia detected by fluorescence in situ hybridization and conventional cytogenetics after stimulation with CpG oligonucleotides and interleukin-2: A prospective analysis [J]. Leuk Res, 2013, 26(13):374
- [7] 周剑波. 间期荧光原位杂交技术在慢性淋巴细胞白血病检测中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2010, 2(4):252-256
Zhou Jian-bo. Genomic abnormalities detected by interphase fluorescence in situ hybridization in chronic lymphocytic leukemia[J]. Journal of Molecular Diagnosis and Therapy, 2010, 2(4):252-256
- [8] Varga Z, Noske A, Ramach C, et al. Assessment of HER2 status in breast cancer: overall positivity rate and accuracy by fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry in a single institution over 12 years: a quality control study [J]. BMC Cancer, 2013, 13(1): 615
- [9] Wong KF, Siu LL, Wong WS. Double Minutes and MYC Amplification: A Combined May-Grunwald Giemsa and Fluorescence In Situ Hybridization Study[J]. Am J Clin Pathol, 2014, 141(2):280-284
- [10] El-Taweel M, Barin C, Cymbalista F, et al. Detection of chromosomal abnormalities associated with chronic lymphocytic leukemia: what is the best method [J]. Cancer Genet Cytogenet, 2009, 195(1): 37-42
- [11] 戴丹, 张秀群, 张学忠, 等. 30 例慢性淋巴细胞白血病分子遗传学异常的 FISH 检测的意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(1):31-35
Dai Dan, Zhang Xiu-qun, Zhang Xue-zhong, et al. Detection of Molecular Cytogenetic Abnormalities in 30 Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia by Fluorescence In Situ Hybridization[J]. Journal of Experimental Hematology, 2009, 17(1):31-35
- [12] 李文君, 郭力, 侯明, 等. 慢性淋巴细胞白血病间期荧光原位杂交检测染色体异常及临床分析 [J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(2):494-498
Li Wen-jun, Guo Li, Hou Ming, et al. Fluorescence in situ hybridization detection of chromosomal abnormalities and clinical analysis in the duration of chronic lymphocytic leukemia [J]. Journal of Experimental Hematology, 2010, 18(2):494-498
- [13] Orlandi EM, Bernasconi P, Pascutto C, et al. Chronic lymphocytic leukemia with del13q14 as the sole abnormality: dynamic prognostic estimate by interphase-FISH[J]. Hematol Oncol, 2012, 31(3):136-142
- [14] 梁兴林. 荧光原位杂交检测慢性淋巴细胞白血病遗传学异常的临床应用研究[D]. 安徽医科大学, 2010
Liang Xing-lin. Clinical application study of fluorescence in situ hybridization in detection of molecular cytogenetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia[D]. Anhui Medical University, 2010
- [15] Wu SJ, Lin CT, Huang SY, et al. Chromosomal abnormalities by conventional cytogenetics and interphase fluorescence in situ hybridization in chronic lymphocytic leukemia in Taiwan, an area with low incidence-clinical implication and comparison between the West and the East[J]. Ann Hematol, 2013, 92(6): 799-806
- [16] Teimori H, Ashoori S, Akbari MT, et al. FISH Analysis for del6q21 and del17p13 in B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia in Iranians [J]. Iran Red Crescent Med J, 2013, 15(2):107-112
- [17] 丛佳, 李辉, 周道斌, 等. 84 例慢性淋巴细胞白血病遗传学异常及预后分析[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(1):1-6
Cong Jia, Li Hui, Zhou Dao-bin, et al. Cytogenetic abnormalities in patients with chronic lymphocytic leukemia and their prognostic significance[J]. Basic & Clinical Medicine, 2012, 32(1):1-6
- [18] Douglas E, Gladstone, Amanda Blackford, et al. The Importance of IGHV Mutational Status in del(11q) and del(17p) Chronic Lymphocytic Leukemia[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2012, 12(2):132-137
- [19] Rodríguez-Vicente AE, Dí az MG, Hernández-Rivas JM. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease [J]. Cancer Genet, 2013, 206(3):49-62
- [20] 吴蔚, 顾健, 马莉, 等. 荧光原位杂交技术在慢性淋巴细胞白血病检测中的应用评估[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(5):1095-1098
Wu Wei, Gu Jian, Ma Li, et al. Evaluation of Fluorescence in situ Hybridization Value in Detection of Chronic Lymphocytic Leukemia [J]. Journal of Experimental Hematology, 2012, 20(5): 1095-1098