

• 造血干细胞移植专题 •

脑脊液嵌合检测在对急性白血病移植后受者中枢复发的预测作用研究

李俊颖 仲照东 游泳 唐亮 陆铨 严晗 王华芳 夏凌辉 胡豫 石威

华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科 血液病学研究所, 武汉 430022

通信作者: 石威, Email: 496042121@qq.com.

【摘要】 目的 探讨异基因造血干细胞移植后脑脊液嵌合状态对于中枢神经系统复发的监测作用。方法 回顾性分析 104 例异基因造血干细胞移植的急性白血病受者, 分别比较脑脊液混合嵌合与完全供者嵌合、受者嵌合率值高低、受者嵌合率升高与降低对中枢复发的预测作用, 分析移植后中枢复发的危险因素, 比较预防性鞘注有无对中枢复发的影响。结果 脑脊液呈混合嵌合状态的受者中枢复发率高于完全供者嵌合者, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 且初次检测时受者嵌合率较高者其中枢复发率高于低嵌合率者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 嵌合率增高者中枢复发率高于嵌合率降低者, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); 初诊时存在高白细胞血症为移植后中枢复发的危险因素 ($P < 0.05$); 所有受者中, 移植后接受预防性鞘注者与无鞘注者中枢复发率无显著性差异 ($P = 0.492$), 分别单独分析 CSF 混合嵌合受者和急性淋巴细胞白血病受者, 预防性鞘注与否对其中枢复发亦无影响 ($P = 0.772, P = 0.650$)。结论 急性白血病受者异基因造血干细胞移植术后监测 CSF 嵌合可有效预测 CNS 复发, 受者嵌合率升高可作为早期干预指征, 而预防性鞘注并不能够使受者获益。

【关键词】 异基因造血干细胞移植; 脑脊液; 中枢神经系统

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2019.03.004

Role of cerebrospinal fluid chimerism in predicating central nervous relapse surveillance for patients of acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Li Junying, Zhong Zhaodong, You Yong, Tang Liang, Lu Xuan, Yan Han, Wang Huaifang, Xia Linghui, Hu Yu, Shi Wei

Department of Hematology, Affiliated Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430022, China

Corresponding author: Shi Wei, Email: 496042121@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the role of cerebrospinal fluid chimerism in central nervous relapse surveillance for patients of acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** The follow-up data were retrospectively collected and analyzed in 104 patients with acute leukemia after allo-HSCT. Comparisons were made between patients with complete chimerism and mixed chimerism in cerebrospinal fluid. The role of recipient DNA percentage and its changing trend in predicting central nervous relapse were also explored. Analysis was conducted for determining the risk factors of central nervous relapse. And the effectiveness of prophylaxis with intrathecal injection was also examined. **Results** The incidence of relapse was higher in patients with mixed chimerism ($P < 0.001$), high percentage of recipient DNA ($P < 0.05$) and higher mixed chimerism ($P < 0.001$). Hyperleukocytosis at an initial diagnosis was a risk factor of central nervous relapse. Whether or not intrathecal injection prophylaxis was applied showed no significant difference in relapsing rate. **Conclusions** Monitoring cerebrospinal fluid chimerism can effectively help predict central nervous relapse among patients of acute leukemia after allo-HSCT. Yet intrathecal injection prophylaxis failed to benefit recipients.

【Key words】 Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; Cerebrospinal fluid; Central nervous relapse

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2019.03.004

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)作为急性白血病的有效治疗方法,自 20 世纪 50 年代临床应用以来,已经挽救了成千上万受者的生命。随着预处理方

案的不断完善、移植后管理的标准化,受者的非复发死亡率明显降低,然而白血病复发尤其是中枢神经系统(CNS)复发,是影响 allo-HSCT 疗效的重要因

素^[1-3]。目前临床对于 CNS 复发的诊断往往依赖于脑脊液细胞学阳性或者影像学检查,影像学检查往往依赖于是否出现临床症状,因此诊断 CNS 复发时往往疾病已进展至终末期。寻找一种能用于 CNS 复发监测且简便易行的手段势必具有良好的临床意义。

嵌合状态是指 allo-HSCT 后供者细胞存在于受者体内的现象,可分为完全供者嵌合(CC)和混合嵌合(MC)。CC 指移植后供者细胞完全取代受者细胞,MC 指移植后在受者的骨髓、外周血、脑脊液(CSF)中可以同时检测到供者和受者的细胞成分^[4]。利用聚合酶链式反应(PCR)扩增短串联重复序列(STR),检测供者细胞嵌合率,灵敏度达 1%~5%,个别病例中可达到 0.1%,已被国际骨髓移植登记处推荐为 allo-HSCT 后定量检测供者细胞嵌合率的金标准^[5]。目前移植后受者骨髓和外周血嵌合状态检测已在临床得以广泛应用,多项研究针对移植后受者骨髓和外周血造血细胞嵌合状态与复发的关系进行了探讨,多数认为 MC 与复发率呈正相关^[5-7]。但移植后受者 CSF 嵌合状态的检测的临床意义报道不多,其能否作为 CNS 复发的监测手段,值得临床工作者探讨。

与此同时,对于移植后受者预防性鞘内注射是否有助于降低 CNS 复发率,各研究尚未达成统一,甚至有研究认为其不仅不能让受者获益,反而会导致明显的治疗相关毒性^[1-3,8-9]。因此,本研究对我院 104 例 allo-HSCT 后的急性白血病受者临床资料进行回顾性分析,旨在探讨 allo-HSCT 后 CSF 嵌合状态对于 CNS 复发的监测作用,并进一步针对移植后预防性鞘内注射是否有助于降低 CSF 复发率提供更多的临床证据。

对象与方法

一、受者资料

2011 年 9 月至 2018 年 4 月期间行 allo-HSCT 的 104 例急性白血病(AL)受者,随访时间至 2018 年 12 月。预处理均采用基于全身照射(TBI)和/或白消安、环磷酰胺(BUCY)的清髓性方案,HLA 全相合受者给予 CsA + MTX + MMF 或 CsA + MTX 预防 GVHD,非 HLA 全相合受者给予 FK506 + MTX + MMF + CD25 单抗 + ATG 或 CsA + MTX + MMF + CD25 单抗 + ATG 预防 GVHD。根据 2019 NCCN(美国国立综合癌症网络)指南对受者行细胞遗传学危险分层,并记录受者移植前状态,其中 CR1 定义为受者处于第一次完全缓解状态,非

CR1 包含完全缓解复发后诱导化疗再次完全缓解状态或移植前未缓解。所有受者移植后均行 CSF 细胞学及嵌合度检测,对于 CSF MC 的受者,每间隔 1~2 个月进行连续监测,CSF CC 的受者若出现神经系统症状则再次检测 CSF 细胞学及嵌合度。

二、STR-PCR 检测

采用 Chelex-100 法抽提 DNA,AGCU Ex22 人类荧光标记复合扩增检测试剂进行复合 PCR 扩增,用遗传分析仪(AB 公司)进行毛细管电泳和基因分析,对受者 CSF 样本(3~5 ml,DNA 模板量 10~100 ng)的 D3S1358 等 22 个 STR 基因座进行检测分析。

三、CNS 复发及 IMC(混合嵌合率升高)、DMC(混合嵌合率降低)的定义

受者 Allo-HSCT 术后,CSF 细胞学检出白血病细胞则诊断为 CNS 复发。IMC 定义为受者细胞嵌合率较前一次检测升高至少 0.1%或由完全供者嵌合状态转变为混合嵌合状态;DMC 定义为受者细胞嵌合率较前一次检测降低至少 0.1%。

四、移植后鞘注

部分受者移植后采用阿糖胞苷(Ara-C 50 mg) + 地塞米松(Dex 5 mg)鞘内注射预防 CNS 复发,对于移植后确诊 CNS 复发的受者采用药物鞘注甲氨蝶呤(MTX 10 mg) + Ara-C(50 mg) + Dex(5 mg)或药物鞘内注射联合全脑加脊髓放疗进行治疗。

五、统计学处理

数据分析采用 SPSS 17.0 软件。统计分析基于生存分析的方法完成,复发率的估计方法采用 Kaplan-Meier 法,生存曲线的比较采用对数秩检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

一、受者基本特征

共纳入 104 例我院行 allo-HSCT 的 AL 受者(表 1),其中男性 60 例,女性 44 例,中位移植年龄 27 岁(12~59 岁),中位随访时间 24 个月(1~77 个月)。

35 例受者移植后检出 CSF 混合嵌合(检出中位时间为移植后 3 个月),中位移植年龄 27 岁(12~54 岁),中位随访时间 18 个月(1~75 个月),ALL 受者 16 例,AML 受者 19 例。其中移植前处于 CR1 状态者 24 例,合并有中枢神经系统白血病(CNSL)者 3 例,初诊时有高白细胞血症者 7 例。混合嵌合组共 9 例受者在随访过程中出现 CNS 复发,均为接受清髓性预处理方案 + 外周血造血干细胞移植(PBSCT)者,类型(例数)分别为 ph(+)-B-ALL(2)、T-ALL(3)、B-

ALL(1)、APL(1)、AML-M5(1)、AML-M1(1),中位复发时间为移植后 11 个月,其中 1 例受者移植前微小残留病灶(MRD)阳性,2 例受者处于非 CR1 状态,1 例受者曾合并有 CNSL,初诊时有高白细胞血症者 3 例(33.3 %)(表 1、表 2)。

表 1 104 例受者基本情况 BCSF 嵌合情况比较(例)

项目	CSF 混合嵌合 (35 例)	CSF 完全供者嵌合 (69 例)	P 值
性别			0.2383
男	23	37	
女	12	32	
移植年龄[岁,(范围)]	27(12~54)	27(12~59)	0.8452
中位随访时间[个月,(范围)]	18(1~75)	24(2~77)	0.4516
CNS 复发			< 0.001
是	9	0	
否	26	69	
类型			0.8385
ALL	16	33	
AML	19	36	
移植前 CNSL			0.2013
有	3	2	
无	32	67	
高白细胞血症			0.1641
有	7	7	
无	28	62	
移植前状态			0.1187
CR1	24	49	
非 CR1	11	14	
unknown	0	6	
移植后鞘注			0.0095
有	27	35	
无	8	34	
供者 HLA			0.2403
全相合	21	33	
非全相合	14	36	
供者来源			0.9863
亲缘	33	65	
非亲缘	2	4	
干细胞来源			0.2219
PBSCT	30	52	
PBSCT + BMT	5	17	

同时,在 CSF 呈混合嵌合状态的 35 例受者中,共 11 例受者进行了同时间点的骨髓 STR 检测,其中 8 例受者骨髓 STR 也呈混合嵌合状态,3 例受者呈完全供者嵌合状态(其中 1 例受者最终出现孤立的 CNS 复发,2 例受者在随访过程中脑脊液转变为完全供者嵌合状态、至随访终点未出现复发)。

69 例受者移植后检出 CSF 呈完全供者嵌合,中位移植年龄 27 岁(12~59)岁,中位随访时间 24 个月(2~77)个月,ALL 受者 33 例,AML 受者 36 例。其中移植前处于 CR1 状态者 49 例,合并有中枢神经系统白血病者(CNSL)2 例,初诊时有高白细胞血症者 7 例。完全供者嵌合受者随访过程中均未出现 CNS 复发表 3)。

二、CSF 混合嵌合与 CNS 复发

分别比较 AL 移植后受者有 CSF 混合嵌合(35 例)和 CSF 完全供者嵌合(69 例)两组的 CNS 复发率,结果提示 CSF 混合嵌合组 CNS 复发率显著高于 CSF 完全供者嵌合组,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 1);基于 ROC 曲线分析 CSF MC 受者初次检测时的受者嵌合率,得出以 43 %为标准将嵌合率分为高、低两组,比较高嵌合率和低嵌合率组 CNS 复发率,前者高于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$,图 2)。进一步对有 CSF 混合嵌合的受者进行连续监测(24 例),其中 6 例受者呈 IMC,随访中 5 例出现 CNS 复发(83.3 %),18 例受者呈 DMC,随访中 1 例受者出现 CNS 复发(5.6 %),IMC 组受者 CNS 复发率高于 DMC 组,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 3)。受者 CSF 嵌合结果及改变与 CNS 复发的关系详见流程图(图 4)。

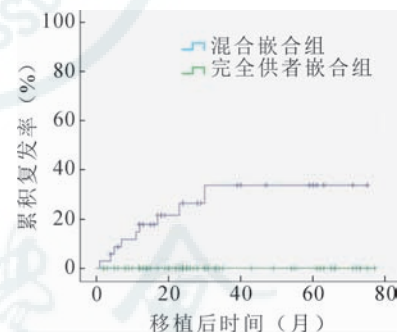


图 1 104 例 AL 受者移植后 CSF 嵌合状态与 CNS 复发的关系

表 2 CNS 复发受者信息表

编号	性别	移植年龄(岁)	诊断	CNS 复发距移植时间(月)	复发部位	细胞遗传学危险分层	初诊时高白细胞血症	移植前 CNSL	移植前疾病状态	预处理	移植方式	HLA 配型	术后预防性鞘注	随访结局
1	女	27	B-ALL,ph(+)	24	CNS	高危	否	否	CRI,MRD(-)	TBI + IDA + Cy	PBSCT	亲缘 6/6	是	死亡
2	男	32	APL	12	CNS	低危	否	否	CRI,MRD(-)	IDA + BUCY2	PBSCT	亲缘 6/6	是	死亡
3	男	16	T-ALL	1	CNS + BM	中危	否	是	CRI,MRD(-)	IDA + BUCY2	PBSCT	非亲缘 10/10	是	死亡
4	男	27	AML-M1	16	CNS	中危	是	否	CRI,MRD(-)	IDA + BUCY2	PBSCT	亲缘 3/6	是	死亡
5	男	24	T-ALL	4	CNS + BM	中危	否	否	CRI,MRD(-)	TBI + 去甲氧 + Cy	PBSCT	亲缘 4/6	是	死亡
6	女	21	T-ALL	30	CNS + BM	高危	是	否	CRI,MRD(-)	TBI + 去甲氧 + Cy	PBSCT	亲缘 4/6	是	死亡
7	男	54	AML-M5	11	CNS	高危	是	否	CRI,MRD(-)	BUCY2	PBSCT	亲缘 6/6	是	存活
8	男	28	B-ALL	8	CNS + BM	中危	否	否	CRI,MRD(+)	TBI + 去甲氧 + Cy	PBSCT	亲缘 4/6	是	死亡
9	女	37	B-ALL,ph(+)	9	CNS + BM	高危	否	否	CRI,MRD(-)	VP-16 + BUCY	PBSCT	亲缘 4/6	是	死亡

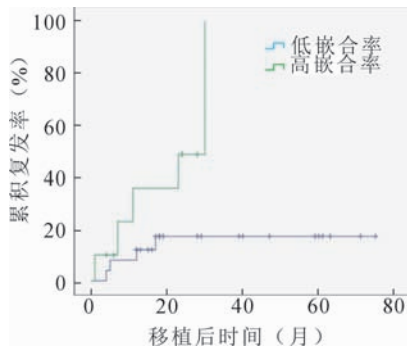


图2 初次检出CSF受者嵌合率高低与CNS复发

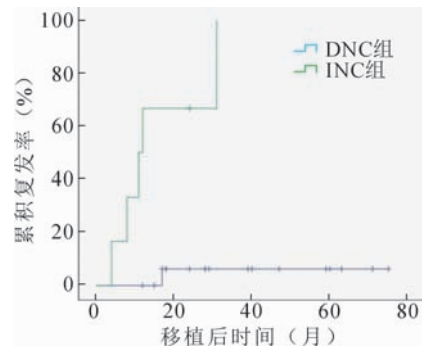


图3 24例AL受者移植后CSF受者细胞嵌合率升高或降低与CNS复发的关系

三、移植后CNS复发危险因素分析

针对受者年龄、性别、类型(ALL、AML-M4或M5、其他类型AML)、移植前CNSL史有无、初诊时高白细胞血症有无、移植前疾病状态(CR1、非CR1)、供者来源(亲缘、非亲缘)、HLA配型(全相合、非全相合)、干细胞来源(外周血、外周血+骨髓)、细胞遗传学危险分层(高、中、低危)这些影响因素进行单因素和多因素分析,结果显示初诊时存在高白细胞血症者移植后三年累计CNS复发率42.1%(95%CI, 22.2%~62%),无高白细胞血症者为7.6%(95%CI, 4.5%~10.7%),为移植后CNS复发危险因素($P < 0.05$);而受者疾病类型、移植前CNSL史、移植前是否CR1、供者来源、HLA配型、干细胞来源CNS复发与未复发组差别无统计学意义。

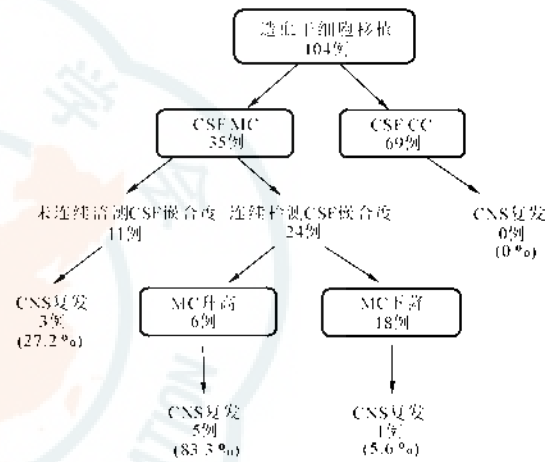


图4 受者CSF嵌合结果与CNS复发关系一览图

表3 AL受者移植后CNS复发危险因素分析

影响因素	三年累计CNS复发率(95%CI)	P值
年龄		0.068
性别	男 11.2%(6.8%~15.6%)	0.068
	女 11.8%(4.9%~18.7%)	0.532
类型	ALL 17.6%(10.2%~25%)	0.464
	AML-M4或M5 4.8%(0.2%~9.4%)	
	其他类型AML 7.6%(2.4%~12.8%)	
移植前CNSL	有 20%(2.1%~37.9%)	0.268
	无 11.4%(7.3%~15.5%)	
高白细胞血症	有 42.1%(22.2%~62%)	0.039
	无 7.6%(4.5%~10.7%)	
移植前疾病状态	CR1 13.7%(8.4%~19%)	0.885
	其他 9%(2.9%~15.1%)	
供者来源	亲缘 11.8%(7.5%~16.1%)	0.558
	非亲缘 16.7%(1.5%~31.9%)	
HLA配型	全相合 8.8%(4.5%~13.1%)	0.51
	非全相合 16.3%(8.6%~24%)	
干细胞来源	外周血 14.5%(9.7%~19.3%)	0.131
	外周血+骨髓 0.00%	
细胞遗传学危险分层	高危 12.3%(5.1%~19.5%)	0.858
	中危 10.6%(5.2%~16%)	
	低危 14.3%(1.1%~27.5%)	

四、移植后预防性鞘内注射与CNS复发

所有随访受者中,共62例接受移植后预防性鞘注(Ara-C+Dex),其中混合嵌合组27例,完全供者嵌合组35例,分析比较其对CNS复发的作用,结果显示,鞘注组与无鞘注组CNS复发率差异无统计学意义(图5, $P = 0.492$),CSF混合嵌合组内预防性鞘注与否对CNS复发亦无显著影响(图6, $P = 0.772$)。将诊断为ALL的受者单独列出(49例),分析比较预防性鞘内注射干预与否对移植后CNS复发的影响,结果提示差异亦无统计学意义(图7, $P = 0.650$)。

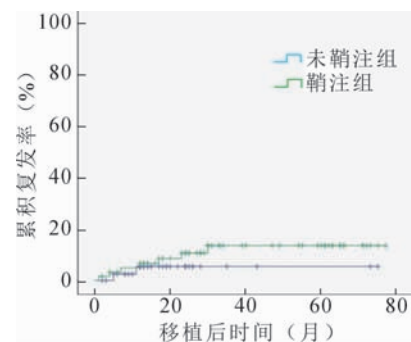


图5 移植后受者预防性鞘内注射对CNS复发的影响

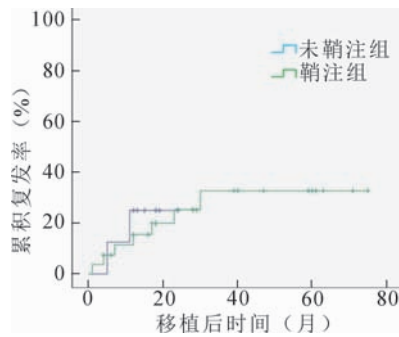


图6 CSF混合嵌合受者行预防性鞘内注射对CNS复发的影响

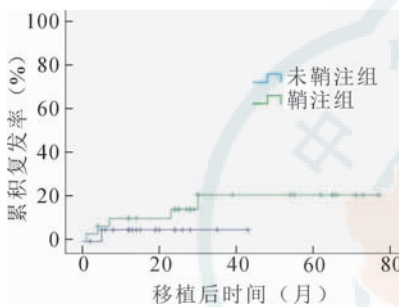


图7 预防性鞘内注射对ALL受者CNS复发的影响

讨 论

Allo-HSCT是目前治愈白血病的有效方法,主要通过预处理和移植抗白血病(GVL)效应来清除MRD,从而起到治疗白血病的作用^[10]。而关于移植后CNS复发的机制尚未阐明,目前普遍认为可能与CNS为白血病细胞的避难所有关,隐藏的白血病细胞可以逃避常规化疗和预处理的杀伤作用,在移植后使用大剂量免疫抑制剂时则可能大量增殖导致复发,而骨髓中则因为较强的GVL效应可能继续维持缓解状态^[11-12]。移植后CNS复发受者预后极差,因此对于CNS复发,关键在于有效监测和早期干预。对CSF进行流式细胞术检测虽具有较高的灵敏度,但移植后复发受者白血病细胞的克隆演变可能导致表面抗原改变,且CSF细胞数量有限,这些都大大影响了流式细胞术检测结果的准确性^[13-14]。嵌合度检测基于STR-PCR对供受者细胞比例进行分析,具有更好的稳定性,且检测结果受样本中细胞数影响较少^[4]。已有多项针对移植后受者骨髓和外周血的嵌合度监测的研究提示MC与较高的复发率相关^[1-3,8-9]。本中心针对AL移植后受者进行CSF嵌合度监测及随访,试图探究其与CNS

复发的关系。结果显示对于CSF MC的移植后受者,其CNS复发率显著高于CSF CC者;我们进一步对CSF MC的受者进行连续的CSF嵌合度监测,结果显示CSF IMC组较DMC组复发率显著增高。以上结果充分说明,接受allo-HSCT后的AL受者通过监测CSF嵌合度有助于评估其CNS复发风险,其中,CSF呈CC者CNS复发风险较低,定期随访即可;而CSF呈MC者,尤其初次检测时受者嵌合率大于43%的受者,建议密切监测CSF嵌合状态,呈升高趋势提示较高的CNS复发风险,需尽早给予预防性治疗措施。有研究证实,对移植后受者CSF进行嵌合度检测评估受者残留,其结果与流式细胞术检测结果具有较高的一致性^[14],也进一步佐证了我们的观点。值得注意的是,腰穿过程中应注意操作的规范性,避免CSF被受者非造血细胞污染而对结果产生干扰。

关于移植后受者CNS复发高危因素,本研究结果显示初诊时高白细胞血症为CNS复发的危险因素。Hamdi等^[8]在研究中则认为,移植前CNSL史是移植后CNS复发的唯一危险因素。在Ge等^[15]研究中,认为ALL髓外复发率较AML显著增高,对于AML受者,移植前未缓解、初诊时高白细胞血症、CNSL史均为高危因素;对于ALL受者其高危因素则为细胞遗传学高危分层、外周血干细胞输注、初诊时高白细胞血症。本研究针对受者诊断类型进行分层,结果显示ALL受者移植后CNS复发率并非明显高于AML的受者,这可能与ALL受者移植前常规鞘注化疗药物预防有关。当然,各研究的结果不完全一致可能与CNS复发受者例数不多有关,尚需进一步扩大随访受者数量和时间来对结果进行校正。

针对CNS复发的早期干预措施,主要有鞘内注射化疗药物和颅脑放疗。多项研究针对预防性鞘内注射的有效性进行了探讨,结果存在诸多不一致^[1-3,8-9]。在本研究中,部分受者移植后采用阿糖胞苷(Ara-C 50 mg)+地塞米松(Dex 5 mg)鞘内注射预防CNS复发,分析比较鞘注组与非鞘注组CNS复发风险,差异无统计学意义。进一步针对有CNS复发高风险的CSF MC受者进行分析,结果显示鞘注与否对其CNS复发率影响亦未见差异。因此本研究认为,对于CSF呈混合嵌合状态并持续升高的受者,Ara-C+Dex的预防性鞘内注射并不能使受者获益,其有效干预方案还需进一步研究得以求证。除此之外,本研究分析ALL的受者预防性鞘注与

否对其复发率的影响,差异无统计学意义,考虑到鞘注化疗药物的毒副作用,我们认为对于诊断 ALL 的受者,不推荐常规给予预防性鞘注,其是否需要早期干预措施依赖于对受者其他高危因素的分析。

总之,本研究结果认为,急性白血病患者 allo-HSCT 后监测 CSF 嵌合可有效预测 CNS 复发,受者嵌合率升高可作为早期干预指征,而预防性鞘注并不能使受者获益。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Thompson CB, Sanders JE, Flournoy N, et al. The risks of central nervous system relapse and leukoencephalopathy in patients receiving marrow transplants for acute leukemia[J]. *Blood*, 1986, 67(1):195-199.
- [2] Ganem G, Kuentz M, Bernaudin F, et al. Central nervous system relapses after bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia in remission[J]. *Cancer*, 1989, 64(9): 1796-1804.
- [3] Singhal S, Powles R, Treleaven J, et al. Central nervous system relapse after bone marrow transplantation for acute leukemia in first remission[J]. *Bone Marrow Transplant*, 1996, 17(4):637-641.
- [4] 王椿, 万理萍. 同种异基因造血干细胞移植后血细胞嵌合状态动态检测的临床意义[J]. *诊断学理论与实践*, 2010(01):1-5.
- [5] Antin JH, Childs R, Filipovich AH, et al. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation; recommendations from a workshop at the 2001 tandem meetings of the international bone marrow transplant registry and the american society of blood and marrow transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2001, 7(9):473-485. DOI: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11669214.
- [6] Formankova R, Honzatkova L, Moravcova J, et al. Prediction and reversion of post-transplant relapse in patients with chronic myeloid leukemia using mixed chimerism and residual disease detection and adoptive immunotherapy[J]. *Leuk Res*, 2000, 24(4):339-347.
- [7] Jacque N, Nguyen S, Golmard JL, et al. Chimerism analysis in peripheral blood using indel quantitative real-time PCR is a useful tool to predict post-transplant relapse in acute leukemia [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2015, 50(2):259-265. DOI: 10.1038/bmt.2014.254.
- [8] Hamdi A, Mawad R, Bassett R, et al. Central nervous system relapse in adults with acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(11):1767-1771. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.07.005.
- [9] Oshima K, Kanda Y, Yamashita T, et al. Central nervous system relapse of leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2008, 14(10):1100-1107. DOI:10.1016/j.bbmt.2008.07.002.
- [10] Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts[J]. *N Engl J Med*, 1979, 300(19):1068-1073. DOI: 10.1056/NEJM197905103001902.
- [11] Lee KH, Lee JH, Choi SJ, et al. Bone marrow vs extramedullary relapse of acute leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation; risk factors and clinical course[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 32(8):835-842. DOI:10.1038/sj.bmt.1704223.
- [12] Ohashi H, Kato C, Fukami S, et al. Leukemic relapse in the central nervous system after allogeneic stem cell transplantation with complete remission in the bone marrow and donor-type chimerism; report of two cases [J]. *Am J Hematol*, 2005, 79(2):142-146. DOI: 10.1002/ajh.20333.
- [13] de Graaf MT, de Jongste AH, Kraan , et al. Flow cytometric characterization of cerebrospinal fluid cells[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2011, 80B(5):271-281. DOI: 10.1002/cyto.b.20603.
- [14] Waterhouse M, Bartsch I, Bertz H, et al. Cerebrospinal fluid chimerism analysis in patients with neurological symptoms after allogeneic cell transplantation[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2016, 51(1):127-131. DOI:10.1038/bmt.2015.226.
- [15] Ge L, Ye F, Mao X, et al. Extramedullary relapse of acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; different characteristics between acute myelogenous leukemia and acute lymphoblastic leukemia[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(7):1040-1047. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.03.030.

(收稿日期:2019-01-28)