

细胞形态相关技术在血液系统肿瘤中的应用*

彭贤贵 杨武晨 李 佳 苟 阳 王 平 刘思恒 张 云 李 艺 张 曦**

(中国人民解放军陆军军医大学 新桥医院血液病医学中心 重庆 400037)

摘要 细胞形态学检验是一门传统的血液病实验诊断技术,方便快捷,实用性强。细胞形态是病理诊断最直观的依据,但现行的普通光学显微镜镜检技术已不能完全满足血液肿瘤精准诊断的需求。如何开发研究或完善相关技术,最大发挥形态学的优势是值得探讨和研究的问题。系统阐述了细胞形态相关技术在血液系统肿瘤的早期诊断、疗效及预后评估及疾病复发等方面的应用研究进展,相信细胞形态相关技术必将为血液系统肿瘤的诊疗带来新的机遇。

关键词 细胞形态 显微镜 流式细胞术 人工智能 血液系统肿瘤

中图分类号 R446.11+3

细胞形态学是现今世界卫生组织(WHO)白血病MIGM分型诊断的第一要素,是病理诊断与鉴别诊断的切入点。没有细胞形态学做铺垫或引导,后续精准检查的实施便没有病理基础或诊断方向。1982年,法美英(FAB)协作组根据细胞形态学的特征对血液系统肿瘤提出了FAB分类方案。FAB分类方案客观实用,至今都是形态学诊断白血病的依据和标准,对常见白血病的诊断与分型都有极大的参考价值。在2001年,WHO首次推出和修订了WHO分类的共识,并于2008年、2010年、2016年分别进行修订,提出了MIGM分型方案。WHO分类在细胞形态学的基础上,更注重的是免疫学、遗传学信息对疾病诊断的影响。无论FAB还是WHO,细胞形态学均为血液病诊断的首要诊断依据,但由于技术单一、观察的对象只是细胞表面的结构,以及对细胞形态的镜检结果判定高度依赖镜检者的主观经验等问题,导致细胞形态学诊断结果准确性和稳定性不高,影响了细胞形态学的临床诊断价值。面对如此状况,发展其他技术对形态学的研究十分必要。目前有很多血细胞形态学相关技术包括光镜高分

辨检测技术、荧光检测技术、流式细胞成像技术以及人工智能辅助诊断技术等已经进入到研究阶段或临床应用,为血细胞形态学的研究和拓展提供了广阔的前景。本文对近几年来就类似的相关技术在血液病的应用新进展进行综述。

1 显微镜图像检测技术

显微镜成像技术广泛应用于临床医学和基础研究,通过放大组织和细胞,观察其形态特征及细微结构,深入了解疾病的微观结构。显微镜成像技术是形态学的基础,从原理上可分为光学显微成像和电子显微成像。光学显微镜可根据光源不同分为普通光、荧光、红外光等不同显微镜,光学显微镜以200nm为极限^[1],低于此界限则为超分辨显微镜,目前超分辨荧光成像技术发展迅速。

1.1 普通光学显微镜

普通显微镜镜检技术主要通过光镜下对细胞进行分类并找到形态特征性改变来诊断疾病,在技术上无较多的创新,但是,通过光镜发现了某些白血病细胞形态特征与特异性基因有关联,已经明确证实异常早幼粒细胞与急性异常早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)伴PML/RARa^[2]、异形中幼粒细胞与急性髓系白血病(acute megakaryoblastic

收稿日期:2019-08-21

* 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项子课题(cstc2016shms-ztzz10003)、重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shmsA130003)资助项目

**通讯作者,电子邮箱:zhangxxi@sina.com

leukemia, AML) 伴 *RUNX1/RUNX1T1* 具有密切相关性。近年来, Vidholia^[3] 等报道的杯口细胞 (Cup-like) 即杯状核细胞, 是指原始细胞存在杯口样的核, 出现在 AML 伴 NPM1 或 FLT3-ITD 基因突变的肿瘤中。也有个案报道杯口细胞出现在 B-急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, B-ALL) 中, 但是该病例这种形态学是否与本例中检测到的 *TP53* 和/或 *DNMT3A* 突变有关尚需进一步研究^[4]。因此仍然可能存在许多特征性的细胞形态与基因之间的关联性, 这需要大量的临床数据以支撑和挖掘。

1.2 荧光显微镜

通过激光理论, 随后出现了激光扫描共聚焦显微镜 (laser scanning confocal microscope, LSCM), 可以三维活体成像, 分辨率在 500~800nm 水平。已成熟应用于临床的荧光显微镜就是荧光原位杂交技术。研究者通过 LSCM 构建了骨髓的三维造血模型, 利于再生障碍性贫血、髓系和淋巴系统肿瘤的诊断^[5]。

另外, 荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术将传统染色体遗传学与 DNA 分子遗传学结合, 通过荧光显微镜直接对目的基因进行定性、定量及定位^[6-8], 是 WHO 血液系统肿瘤诊断标准依据之一。FISH 具有针对潜在重排基因 (如 *CBFB/ETV6*) 的分离探针, 及针对肿瘤相关的融合基因 (如 *FIP1L1-PDGFR*) 的独特探针。例如, 在高嗜酸细胞增多症的鉴别诊断中, 还应用分子遗传学方法对特征基因突变 (如 *CKIT*) 和基因融合 (如 *ETV6-PDGFRB*) 进行分析^[9]。不同探针, 针对不同靶向基因, 以辅助诊断或评估预后。最经典的 FISH 检测融合基因 t(9;22), 诊断及监测慢性髓系白血病预后^[10]。荧光显微镜下观察白血病细胞中衍生 22 号染色体上绿色和红色荧光色素的结合, 表明 t(9;22) (q34;q11.2) 导致 *BCR-ABL1* 融合基因的存在; 通过 FISH 还可检测 ALL 及 AML 中所有类型的 *MLL* 基因易位情况^[11]。

1.3 高分辨显微镜及超高分辨显微镜

利用高分辨图像技术, 使得 LSCM 的分辨率可以达到纳米水平, 研究者对血小板颗粒性疾病进行了诊断, 高分辨显微镜比扫描电镜更有优势^[5]。超分辨荧光成像技术目前多用于基础研究, 主要分为受激发射损耗

(stimulated emission depletion, STED) 显微镜技术^[12], 和随机光学重建显微镜 (stochastic optical reconstruction microscopy, STORM)^[13]。

1.4 电子显微镜成像技术

电子显微镜分为扫描电镜和透射电镜, 分辨率在纳米水平^[14]。早在 20 世纪末, 流式细胞学, 基因等血液病的辅助诊断技术还未出现, 我国已经有电镜技术用于血液病诊断的一些应用, 如电镜对原始细胞的识别辅助急性白血病的分型, 在分类疑难白血病诊断中的应用等。国外也有关于正常和白血病细胞在扫描电镜下的形态的一个详细描述, 例如如何区分原始单核细胞、淋巴细胞和原始粒细胞^[15]; Polliack 等^[16] 通过电镜分析了毛细胞白血病 (HCL) 的细胞特征。2009 年, Ru 等^[17] 研究对 AML-M5 的原始细胞根据其在透射电镜下的核浆等特征进行了具体分型。同期也有透射电镜对 50 例急性白血病的临床诊断价值的相关研究^[18]。2017 年, 有研究比较了 AML-M7 的原始巨核细胞的光镜和扫描电镜下的特点^[19]。

电镜对于骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndrome, MDS) 和贫血等疾病的诊断也有一定的辅助价值。Terzakis 等^[20] 对 MDS 的外周血涂片进行研究, 作者用扫描电镜对外周血白细胞进行观察, 白细胞有一系列形态改变, 其中最具有特征性的是胞浆颗粒减少和胞浆颗粒聚集, 提出结合这两个特征可强有力地预测是否为 MDS。2017 年, Resnitzky 等^[21] 提出了先天性红系发育不良性贫血的光镜和电镜特征, 提示电镜下的形态学特征对疾病诊断有更高的特异性。电镜还对血液疑难病的诊断起到一定的辅助作用, 例如研究者通过电镜诊断了 t(8,21) 的三表型急性白血病^[22] 以及嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞共存的 AML^[23]; 有一例有典型的胞浆含有大颗粒的淋巴细胞的病例, 通过电镜证实其颗粒为单克隆 IgM, 该病例诊断为淋巴浆细胞淋巴瘤 (lymphoplasmacytic lymphoma, LPL)^[24]; 另有一例光镜下支持为有浆细胞分化的淋巴瘤, 组化特征支持为上皮癌, 最终电镜确诊为上皮癌^[25]。

1.5 原子力显微镜

与传统光学显微镜和电子显微镜不同, 原子力显微镜是通过其探针原子与样品的表面原子的作用力来

实现对样品表面形貌观测的。原子力显微镜在扫描隧道显微镜的基础上发展起来^[26]。对样本制备无特殊要求,可探测样品表面结构,分辨率在纳米水平。原子力显微镜近年来的研究稍多,主要用于细胞表面精细形态结构的观察研究。原子力显微镜通过观察慢性髓细胞白血病肿瘤细胞形态^[27]、地中海贫血及缺铁性贫血的红细胞形态^[28-29]等,以辅助临床诊断。

2 流式细胞术成像技术

流式细胞术(flow cytometry, FCM)是一种能够对单个细胞或生物颗粒进行定性、定量分析及分选的检测手段^[30]。在血液肿瘤的诊断中,流式细胞术主要通过对手血细胞(髓细胞、B 细胞、T 细胞及 NK 细胞)的荧光标记和检测来判断细胞的来源及克隆性,从而提供免疫学方面的诊断依据。

2.1 流式细胞术研究进展

近年来,FCM 的发展日新月异,技术不断有新的突破,开发出了流式细胞仪的新技术新方法以及临床应用新领域,例如光谱流式、质谱流式、微流控芯片流式细胞术、实时变形性流式细胞术以及跟形态密切相关的成像流式等^[31]。质谱流式细胞仪和成像流式细胞仪可以被称为二代流式细胞仪。

2.2 成像流式

成像流式(imaging flow cytometry)是一种台式多波段成像流式细胞仪,它将传统的流式细胞检测与荧光显微成像结合于一身,既能提供细胞群的的散射光和荧光信号强度,又可以获得单个细胞的图像,从而提供细胞形态学、细胞结构和亚细胞信号分布的信息。其应用范围十分广泛,除了能够完成传统流式细胞仪能够完成的工作,它还能进行亚细胞定位、细胞周期、高通量 FISH 分析、分子转运示踪、细胞内吞等诸多传统流式细胞仪不能完成的研究工作。

传统的血液系统疾病的诊断是通过细胞形态学,免疫表型和细胞遗传学异常来诊断和分类。成像流式细胞仪为急性白血病的诊断评估增加了新的维度。Grimwade^[32]等的研究显示在一个集成的自动化高通量测试中既可可视化感兴趣的细胞,表达的抗原的模式和定位以及评估细胞遗传学异常。成像流式细胞仪的

“扩展景深”功能使 FISH 探针信号(“斑点”)能够在免疫表型细胞(染色的)细胞核内被解析和定位。Hui 等^[33]报道利用 Amnis ImageStreamX mark II 平台对正常血液进行自动“immuno-flowFISH”的开发,并建立了一种的新方法在评估慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocyte leukemia, CLL)中 12 号染色体,其有可能应用于疾病分层的诊断,并在治疗后评估残留疾病。这些应用将帮助临床医生优化治疗决策,从而改善患者的治疗效果。

快速检测大的异质细胞群体内的形态学和细胞内分子变异的能力对于理解和利用细胞异质性是必不可少的。Lei 等^[34]通过光流控时间拉伸显微镜进行高通量成像流式细胞术,用于从人类血液到藻类的各种细胞类型的大规模单细胞分析,从而实现独特的生物学、医学、制药和绿色能源应用。

3 人工智能细胞识别技术

人工智能(AI, artificial intelligence)是一种计算机系统,可以执行类似人类智能的任务,例如模式识别、学习、推理、决策,甚至自我校正等^[35]。在医疗领域,特别是在医学影像智能诊断方面取得了突飞猛进的进步,例如放射学^[36](例如 X 线、CT、MRI、PET-CT 等)、超声及病理切片^[37]等。人工智能在医学影像的应用主要是通过对医学图像进行分析和处理,方法主要包括蚁群算法、人工神经网络、遗传算法及多 Agent 技术等。而关于血细胞形态的人工智能技术的研究报道也较多。

3.1 单个类型血细胞识别

Elsalamony 等^[38]使用神经网络检测人类血涂片中的镰状状红细胞、椭圆形红细胞、小球形红细胞和形状未知的红细胞,识别有效率分别达到了 100%, 98%, 100% 和 99.3%。在对外周血白细胞方面,作者使用传统图像处理 and 卷积神经网络方法对白细胞进行分类,卷积神经网络获得了 99% 的平均准确度和灵敏度^[39]。

3.2 急性髓系细胞白血病辅助诊断

Kazemi 等^[40]通过使用 K-means 算法及向量机(SVM)分类器对 AML 的常见类型 M2-M5 的形态进行自动识别,敏感性、特异性和准确性分别为 95%、98% 和 96%。Su 等^[41]首先通过 K-means 聚类算法,对细胞

进行分割,然后通过 HMRF (hidden-markov random field) 建立细胞图像表示模型,通过 EM (expectation maximization) 的概率估计模型参数(期望最大化),进行收敛迭代直到最优值,最后实现第二阶段精细分割。

3.3 急性淋巴细胞白血病辅助诊断

Moshavash 等^[42]提出了一种新型稳定的细胞分割技术:从血液显微图像中去除背景和红细胞,则剩余区域将指示为白细胞候选区域,并有效地分割来自各种类型的血液显微图像的白细胞,最终准确率在细胞水平上为 98.10%,解决白细胞图像的特征在不同的实验室中成像不均一的问题。Acharya 等^[43]应用图像分割和数据挖掘算法检测急性淋巴细胞白血病。上述目标以两种方式实现。开发了一种新的算法来分割白细胞的细胞核和细胞质;其次,建立模型来提取特征并训练模型。Shafique^[44]等通过深度卷积神经网络检测急性淋巴细胞白血病及其亚型分类,对于急性淋巴细胞白血病的检测,我们的灵敏度达到 100%,特异性达到 98.11%,准确度达到 99.50%;急性淋巴细胞白血病亚型分类的敏感性为 96.74%,特异性为 99.03%,准确性为 96.06%。

3.4 其他类型疾病辅助诊断

慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 是最常见的白血病类型之一,患者的早期诊断与适当的治疗和生存是一致的。如果病人早期诊断或没有及时治疗,可能会导致不良的后果。Shaabanpour 等^[45]从血液样本中用人工神经网络 (ANN) 检测 CLL 中 12 个差异较大的基因,结果表明:神经网络的训练过程可以应用于 CLL 的快速诊断和寻找潜在的生物标志物。使用瓶颈算法,改进的分水岭和 SVM 分类器在显微图像中自动识别骨髓瘤细胞^[46]。

4 其他相关图像检测技术

近年来,X 射线和高光谱成像技术也应用于血细胞形态学研究,通过运用自身技术的特性对血细胞进行独特分析和判断,为临床诊疗提供不同途径的形态学病理依据。

4.1 X 射线成像技术

Darrow 等^[47]使用软 X 射线显微镜分析了 600 多个

镰状红细胞在疾病发展过程中的大小和形状。采用二维方法无法获得的突出物数量作为镰状体严重程度的指标,可按疾病进展分为四类:无、轻度、中度和重度。此外,该研究还分析了抗镰状体药物复方 5C 的作用,结果表明,复方 5C 可降低 80% 的镰状体疾病的严重程度。该研究认为软 X 射线断层摄影 (SXT) 被用来分类镰状红细胞的形态、分析疾病的状态和候选药物的有效性。

4.2 高光谱成像技术

高光谱成像 (hyperspectral imaging, abbr. HSI), 也称为成像光谱 (imaging spectroscopy), 是一种光学诊断技术,它具有光谱和成像的双重功能,能对目标对象的化学结构和物理形态信息进行同时获取 (emerging process analytical tool for food quality and safety control)。其在医学诊断方面具有很好的临床开发应用前景。高光谱成像与显微镜整合,对病理学切片及细胞等微小尺度对象进行研究。Wang 等^[48]提出了一种结合高光谱显微成像技术以及神经网络识别技术的识别方法,以识别 ALL 中的原始淋巴细胞。其将归一化和编码方法应用于光谱特征提取,并提出了支持向量机-递归特征消除 (SVM-RFE) 算法用于空间特征确定。提出了一种基于标记的学习矢量量化 (MLVQ) 神经网络,用于集成特征的识别。研究结果表明,该算法的识别准确率、灵敏度和特异度分别为 92.9%、93.3% 和 92.5%,该技术有可能为所有预诊断提供可行的工具。

5 总结与展望

综上所述,尽管细胞形态相关技术在血液系统肿瘤的研究及应用虽然处于研究阶段,多数未进入临床。但是,随着科技的发展上述提到的相关技术,尤其是电子显微镜成像、成像流式、高光谱成像、人工智能技术将会有很好的发展应用前景。人工智能对血液肿瘤的智能诊断的研究如火如荼,细胞形态和流式细胞仪数据的智能化分析将会应用于临床血液肿瘤的辅助诊断。然而细胞形态相关技术的研究仍然存在一定的问题,如检查费用高,使用范围窄,临床普及开展困难,稳定性不足,人工智能诊断标准的权威性、伦理问题等都需要在临床实践中逐步解决。细胞形态学的发展及技

术的延伸必将是在提高普通光学显微镜细胞检查水平的基础上,借助其他多种先进技术,从不同的途径丰富形态学的内涵,提升诊断价值,为临床血液肿瘤的实验诊断提供更加客观有效的病理诊断依据,在精准医学中发挥更大的作用。

参考文献

- [1] Goodwin P C. A primer on the fundamental principles of light microscopy: Optimizing magnification, resolution, and contrast. *Molecular Reproduction and Development*, 2015, 82(7-8):502-507.
- [2] Zhao J, Liang J W, Xue H L, et al. The genetics and clinical characteristics of children morphologically diagnosed as acute promyelocytic leukemia. *Leukemia*, 2019, 33(6): 1387-1399.
- [3] Vidholia A, Menon M P. “Cup-like” blasts in acute myeloid leukemia with FLT3 and NPM1 mutations. *Blood*, 2015, 125(5): 889.
- [4] Teixeira C, Azevedo A P, Silva C, et al. “Cup-like” blast cells in B lymphoblastic leukaemia; A clinical case. *Haematologica*, 2018, 103: 323-323.
- [5] Takaku T, Malide D, Chen J C, et al. Hematopoiesis in 3 dimensions; human and murine bone marrow architecture visualized by confocal microscopy. *Blood*, 2010, 116(15): E41-E55.
- [6] Spinner N B. Chromosome banding//Stanley M, Kelly H. *Brenners encyclopedia of genetics*. Amsterdam: Elsevier, 2013: 546-548.
- [7] Hu L, Ru K, Zhang L, et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH): an increasingly demanded tool for biomarker research and personalized medicine. *Biomarker Research*, 2014, 2(1): 3.
- [8] Bozorg-Ghalati F, Mohammadpour I, Ranjbaran R. Applications of fluorescence in situ hybridization in detection of disease biomarkers and personalized medicine. *Comparative Clinical Pathology*, 2019, 28(1): 3-10.
- [9] Skonieczka K, Matakowska K, Haus O. The hematological malignancies related to primary hypereosinophilia and their diagnostics. *Postpy Higieny I Medycyny Dowiadczalnej*, 2014, 68:1530-1537.
- [10] Dewald G W, Schad C R, Christensen E R, et al. The application of fluorescent in situ hybridization to detect Mbc/abl fusion in variant Ph chromosomes in CML and ALL. *Cancer Genetics & Cytogenetics*, 1993, 71(1):7.
- [11] Wan Thomas S K. Applications of fluorescence in situ hybridization technology in malignancies// *Cancer cytogenetics [Methods in molecular biology]*. Berlin: Springer, 2017, 75-90.
- [12] Balzarotti F, Eilers Y, Gwosch K C, et al. Nanometer resolution imaging and tracking of fluorescent molecules with minimal photon fluxes. *Science*, 2017, 355(6325): 606-661.
- [13] Fernández-Suárez, Marta, Ting A Y. Fluorescent probes for super-resolution imaging in living cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(12): 929-943.
- [14] Wang H W, Lei J, Shi Y. Biological cryo-electron microscopy in China. *Protein Science*, 2016, 26(1): 16-31.
- [15] Terzaklis J A, Santagada E, Hernandez A, et al. Scanning electron microscopy of peripheral blood smears: Comparison of normal blood with some common leukemias. *Ultrastructural Pathology*, 2005, 29(1): 19-28.
- [16] Polliack A, Tadmor T. Surface topography of hairy cell leukemia cells compared to other leukemias as seen by scanning electron microscopy. *Leukemia & Lymphoma*, 2011, 52: 14-17.
- [17] Ru Y X, Mi Y C, Liu J H, et al. Significance of transmission electron microscopy in subtyping of monocytic leukemia. *Ultrastructural Pathology*, 2009, 33(2): 67-75.
- [18] Chatterjee T, Mahapatra M, Pati H P, et al. Use of transmission electron microscopy in diagnosis of acute leukemias: A prospective study of fifty cases. *Blood*, 2005, 106(11): 4509.
- [19] Chetty T, Masingi N I, Laher Z, et al. Acute megakaryoblastic leukaemia; light microscopy and scanning electron microscopy of blast cells. *British Journal of Haematology*, 2017, 176(5): 686.
- [20] Terzaklis J A, Taskin M. Peripheral blood smears of myelodysplasia patients: Scanning electron microscope findings. *Ultrastructural Pathology*, 2008, 32(4): 127-138.
- [21] Resnitzky P, Shaft D, Shalev H, et al. Morphological features of congenital dyserythropoietic anemia type I: The role of electron microscopy in diagnosis. *European Journal of Haematology*, 2017, 99(4): 366-371.
- [22] Shvidel L, Shtalrid M, Shaft D, et al. t(8;21) acute myeloid leukemia with trilineage phenotype diagnosed by electron microscopy. *Leuk Lymphoma*, 2008, 49(11): 2203-2205.
- [23] Shvidel L, Sigler E, Shtalrid M, et al. Hybrid eosinophilic-basophilic acute myeloid leukaemia diagnosed by electron microscopy. *British Journal of Haematology*, 2007, 137(4):

- 381-383.
- [24] Lee S, Graham L M, Chan G, et al. A diagnostic mystery solved by electron microscopy: A case of an “ Atypical ” lymphoproliferative disorder. *Ultrastructural Pathology*, 2012, 36 (5) : 362-365.
- [25] Eyden B, Chakrabarty B, Hatimy U. Carcinoma versus cytokeratin-positive lymphoma: A case report emphasizing the diagnostic role of electron microscopy. *Ultrastructural Pathology*, 2009, 33(1) : 33-38.
- [26] Yen C F , Sivasankar S . Minimizing open-loop piezoactuator nonlinearity artifacts in atomic force microscope measurements. *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 2017, 35 (5) : 053201.
- [27] Gaman A, Osiac E, Rotaru I, et al. Surface morphology of leukemic cells from chronic myeloid leukemia under atomic force microscopy. *Curr Health Sci J*, 2013, 39(1) : 45-47.
- [28] Zhang Y P, Zhang W, Wang S Q, et al. Detection of human erythrocytes influenced by iron deficiency anemia and thalassemia using atomic force microscopy. *Micron*, 2012, 43 (12) : 1287-1292.
- [29] Li M, Liu L Q, Xi N, et al. Atomic force microscopy imaging and mechanical properties measurement of red blood cells and aggressive cancer cells. *Science China-Life Sciences*, 2012, 55 (11) : 968-973.
- [30] Li J , Wertheim G , Paessler M , et al. Flow cytometry in pediatric hematopoietic malignancies. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2017, 37(4) :879-893.
- [31] Han Y , Gu Y , Zhang A C , et al. Review: imaging technologies for flow cytometry. *Lab on a Chip*, 2016, 16(24) :4639.
- [32] Grimwade L F, Fuller K A, Erber W N. Applications of imaging flow cytometry in the diagnostic assessment of acute leukaemia. *Methods*, 2017, 112: 39-45.
- [33] Hui H, Fuller K A, Chuah H, et al. Imaging flow cytometry to assess chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukaemia. *Methods*, 2018, 134-135: 32-40.
- [34] Lei C, Kobayashi H, Wu Y, et al. High-throughput imaging flow cytometry by optofluidic time-stretch microscopy. *Nat Protoc*, 2018, 13(7) : 1603-1631.
- [35] Koo B K, Samady H. Strap in for the artificial intelligence revolution in interventional cardiology. *JACC Cardiovasc Interv*, 2019, 12(14) : 1325-1327.
- [36] Auffermann W F, Gozansky E K, Tridandapani S. Artificial intelligence in cardiothoracic radiology. *Am J Roentgenol*, 2019, 212(5) :1-5.
- [37] Bora K, Chowdhury M, Mahanta L B, et al. Automated classification of Pap smear images to detect cervical dysplasia. *Comput Methods Programs Biomed*, 2017, 138: 31-47.
- [38] Elsalamony H A. Healthy and unhealthy red blood cell detection in human blood smears using neural networks. *Micron*, 2016, 83: 32-41.
- [39] Hegde R B, Prasad K, Hebbar H, et al. Feature extraction using traditional image processing and convolutional neural network methods to classify white blood cells: a study. *Australas Phys Eng Sci Med*, 2019, 42(2) : 627-638.
- [40] Kazemi F, Najafabadi T A, Araabi B N. Automatic recognition of acute myelogenous leukemia in blood microscopic images using K-means clustering and support vector machine. *J Med Signals Sens*, 2016, 6(3) : 183-193.
- [41] Su J, Liu S, Song J. A segmentation method based on HMRF for the aided diagnosis of acute myeloid leukemia. *Comput Methods Programs Biomed*, 2017, 152: 115-123.
- [42] Moshavash Z, Danyali H, Helfrrouch M S. An automatic and robust decision support system for accurate acute leukemia diagnosis from blood microscopic images. *J Digit Imaging*, 2018, 31(5) : 702-717.
- [43] Acharya V, Kumar P. Detection of acute lymphoblastic leukemia using image segmentation and data mining algorithms. *Med Biol Eng Comput*, 2019, 57(8) :1783-1811.
- [44] Shafique S, Tehsin S. Acute lymphoblastic leukemia detection and classification of its subtypes using pretrained deep convolutional neural networks. *Technol Cancer Res Treat*, 2018, 17:1-7.
- [45] Shaabanpour A F, Mollashahi B, Nosrati M, et al. Application of an artificial neural network in the diagnosis of chronic lymphocytic leukemia. *Cureus*, 2019, 11(2) : e4004.
- [46] Saeedizadeh Z, Mehri Dehnavi A, Talebi A, et al. Automatic recognition of myeloma cells in microscopic images using bottleneck algorithm, modified watershed and SVM classifier. *J Microsc*, 2016, 261(1) : 46-56.
- [47] Darrow M C, Zhang Y, Cinquin B P, et al. Visualizing red blood cell sickling and the effects of inhibition of sphingosine kinase 1 using soft X-ray tomography. *J Cell Sci*, 2016, 129(18) : 3511-3517.
- [48] Wang Q, Wang J, Zhou M, et al. Spectral-spatial feature-based

neural network method for acute lymphoblastic leukemia cell
identification via microscopic hyperspectral imaging technology.

Biomed Opt Express, 2017, 8(6): 3017-3028.

The Application of Related Cytomorphological Technology in Hematological Neoplasms Research Progress

PENG Xian-gui YANG Wu-chen LI Jia GOU Yang WANG Ping

LIU Si-heng ZHANG Yun LI Yi ZHANG Xi

(Hematological Medical Center in Xinqiao Hospital of Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract Cytomorphological test is a traditional experimental diagnostic technique for hematological diseases, which is convenient, fast and practical. It is the most intuitive basis for pathological diagnosis, while the current optical microscopy technology can not fully meet the needs of accurate diagnosis of hematological tumors. How to develop, research and improve the related technologies and maximize the advantages of morphology is a problem worthy of our discussion and research. The application of cytomorphological technology in early diagnosis, curative effect, prognosis evaluation and disease recurrence of Hematological neoplasms is systematically reviewed. It is believed that Cytomorphological technology will bring new opportunities for the diagnosis and treatment of hematological system tumors.

Key words Cytomorphology Microscope Flow cytometry Artificial intelligence Hematological neoplasms