

行政院及所屬各機關出國報告

出國類別：研究

血液病理及相關分子生物診斷技術

服務機關：國立成功大學醫學院附設醫院

出國人職稱：主治醫師

姓名：張孔昭

出國地區：美國

出國期間：91年2月19日至91年2月15日

報告日期：92年4月8日

J2/
CO9>00972

行政院及所屬各機關出國報告提要

出國報告名稱：血液病理及相關分子生物診斷技術

頁數 12 含附件：是否

出國計畫主辦機關/聯絡人/電話

成功大學醫學院附設醫院/洪璨貞/(06)2353535 轉 2049

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話

張孔昭/成功大學醫學院附設醫院/病理部/主治醫師/06-2353535 轉 2636

出國類別：1.考察2.進修3.研究 4.實習5.其他：開會

出國期間：民國 91 年 2 月 19 日至民國 92 年 2 月 15 日 出國地區：美國

報告日期：民國 92 年 4 月 8 日

分類號/目：西醫/J2

關鍵詞：血液病理，分子生物，診斷技術

內容摘要：

T 細胞受體基因重組是 T 細胞單株增殖的一個標記，可用來區別良性或惡性的 T 細胞增殖。腫瘤是一種單株增殖的觀念已被大家廣為接受，因此在可疑的 T 細胞增殖病變中，以分子生物技術偵測出單株增殖是診斷 T 細胞淋巴瘤的重要工具。

基因掃描方法是一種以電腦分析 PCR 產物螢光的新方法，其原理為多株生長的 T 細胞族群其 PCR 產物因不同大小的基因片段被放大，會呈現高斯曲線的分布。單株生長的 T 細胞族群會呈現一個或二個重組基因放大的高峰，寡株生長的細胞族群其 PCR 分析則會在多株細胞族群的背景呈現多個高峰。

內容摘要

T 細胞受體基因重組是 T 細胞單株增殖的一個標記，可用來區別良性或惡性的 T 細胞增殖。腫瘤是一種單株增殖的觀念已被大家廣為接受，因此在可疑的 T 細胞增殖病變中，以分子生物技術偵測出單株增殖是診斷 T 細胞淋巴瘤的重要工具。

基因掃描方法是一種以電腦分析 PCR 產物螢光的新方法，其原理為多株生長的 T 細胞族群其 PCR 產物因不同大小的基因片段被放大，會呈現高斯曲線的分布。單株生長的 T 細胞族群會呈現一個或二個重組基因放大的高峰，寡株生長的細胞族群其 PCR 分析則會在多株細胞族群的背景下呈現多個高峰。

目次

行政院及所屬各機關出國報告提要-----	第 1 頁
內容摘要-----	第 2 頁
目的-----	第 4 頁
過程-----	第 4 頁
進修機構介紹-----	第 5 頁
心得-----	第 7 頁
研究內容-----	第 9 頁
建議-----	第 12 頁

目的

為提升成功大學醫學院附設醫院病理部的血液病理診斷技術

過程

收音機中傳來音樂“....nobody knows me””，正在收拾行李打包的我，頓時思緒飛回到去年 2002 年的十二月.... 當時收到國科會回函，通知可赴休士頓進修一年計畫時，心情真是錯綜複雜。一來很為可以到這個國際聞名的癌症中心吸收新知感到興奮，然而遠赴異鄉，即將面臨一切未知的挑戰，也讓我們感到緊張。所幸國科會科學組駐休士頓辦公室於出發前給了我們一些資訊，讓我們對未來一年的生活稍有一點輪廓。

搭乘飛機使得以往需耗時十天半個月海上的行程，縮短為十幾個鐘頭，但也真讓人坐的腰酸背痛的了。不過真要人克服的還是時差的問題，剛到的一個禮拜，一切手續尚須完成，申請社會安全卡，完成報到手續，考駕照，最重要是解決住的問題，一切都在歐清南教授及歐太太超音速的高效率之下完成。在抵達休士頓第三天，我們就住進歐太太為我們找的 apartment，也接通上電話與台灣親人聯絡報平安，躺在家具公司送來的床上，環顧四週無一長物，但也已有了家的雛型。

接下來的才真是挑戰--考駕照，休士頓是一個相當大的城市，但除了汽車之外，卻無更便捷的大眾捷運系統，一切出入均需要開車，所以擁有駕照及一部代步的車，是一切行動的開始。從筆試開始到路試，著實讓我

們吃了不少苦頭，尤其是路試，因為在台灣較少開車且車速較慢，因此上路時狀況百出，但愈挫愈勇，終於讓我們拿到在美國第一張 photo ID。可別小看這張薄薄的卡片對於身為外國人的我們可相當於身分證，在一切大致妥善之後也開始我這一年的研究計劃。

在這一年的研究期間筆者的研究工作分為兩部分，一為實驗室的工
作；一為病理切片的閱片工作，前者佔去了大半時間。

進修機構介紹

安德森癌症中心位於美國南部德州的休士頓市，隸屬於德州大學系統中的一個機構，是一所專門治療癌症的醫院。標榜對癌症病人的照顧、研究、教育，以及預防。安德森癌症中心創立於西元1941年最早是由 Sloan-Kettering Cancer Center 分出，經過幾十年的努力，已連續十二年名列全美癌症醫院排行前兩名。

從1944年起已有超過五十萬名癌症病人在安德森癌症中心接受治療，其治療方法包括外科手術、化學治療、放射線治療、免疫療法以及上述方法的合併療法。以研究為基礎的治療方式是安德森癌症中心的一個特色，大約有 15% 的病人在其病程的某個階段會接受新療法的臨床試驗。

在研究方面，安德森癌症中心有九百多位博士，比其他研究機構更專注於以病人照顧為主要的研究。實驗室中所得到的重要醫學知識常經由臨床試驗被快速地應用到病人的治療。安德森癌症中心一年的研究經費超過二

億美元，其申請的研究計畫經費佔國家癌症機構的第一位，美國癌症學會的第三位，其研究計畫被認為是世界上對癌症研究最有貢獻的計畫之一。由於體認到預防是減除癌症威脅最好的方法，安德森癌症中心以多元化的努力，致力於癌症的流行病學研究，以及發展可行的癌症預防方法，如個人罹癌危險因子的評估、癌症篩檢以及基因諮詢。

教育方面，每年有幾百位住院醫師及臨床研究員來到安德森癌症中心，接受有關癌症治療及研究的特別訓練，有近三百名研究生為博士學位而努力，七百多名基礎醫學研究員在實驗室接受訓練，我也是其中之一。安德森癌症中心不僅將照顧癌症病人的經驗分享給全球數以千計接受繼續教育的從業人員，也教導一般民眾有關癌症的症狀危險因子，以及如何對癌症病人的照料作重要的決定。

安德森癌症中心的另一特色是有眾多的義工為病患服務，除了約一萬兩千名員工外，還有一千五百名義工每年提供二十六萬小時為病人服務，員工與義工皆貢獻心力為對抗癌症而努力。安德森癌症中心的硬體設備仍在擴建當中，在過去五年其大樓體積增加一半，包括增建 249 床病房，1998 年啟用的臨床研究大樓，兩年前完工的十三層教職員辦公大樓，擴建後共 324 床的病人家屬旅館以及一棟正在興建中的研究大樓。(以上摘自 www.mdanderson.org--M.D. Anderson Institutional Profile)

心得

安德森癌症中心能成為世界知名的癌症治療醫院，筆者認為其因如下：

一. 分工極細的科別及充沛的人才

安德森癌症中心是一所專門治療癌症的醫院，眾多的醫師與博士，加上極專門的分科，使各種癌症病人都得到最佳的療法。以筆者造訪的血液病理部門為例，血液病理科雖名義上隸屬於病理暨實驗醫學部，實際上卻獨立出來另成一科。除去諮詢病例不計，安德森癌症中心病理部每年約有兩萬一千例外科標本，其中血液病理約佔六千例。在血液病理科內又分為七個次分科 (section)，包括骨髓、白血病、淋巴瘤、分子診斷、免疫暨流體細胞儀、細胞遺傳，以及血液病理診斷，共有十三位血液病理專家 (faculty)。

二. 蓬勃的研究風氣與充足的設備資源

以血液病理科為例十三位教員皆有隸屬於自己的實驗室，申請許多五年期大型計劃，並且有許多來自於世界各地的博士後研究員為其工作。除了臨床工作之外，基礎研究的發展也不遺餘力，近十幾年來，來自大陸的研究人員與日俱增，幾乎遍佈每個實驗室，且絕大部份以獲得居留權為最後目標。相較之下，臺灣來的研究人員便成少數，且隨著生活水準越加提昇，臺灣留學生的數目反日漸減少，筆者擔心，長此以往，臺灣對大陸的學術優勢將不復存在，甚至反被超越，這應是臺灣學術研究的一大隱憂。

三. 健全的資訊系統

安德森癌症中心有健全的資訊系統與資訊服務部門，舉凡實驗室內電腦軟體的設立，電子通信的管理，重要或私人檔案的密碼管理以及各種電腦問題，皆有專人處理，更重要的是每週末定期維修，確保電腦的最佳狀況。

四. 敬業樂群的員工

圖書館人員親切的笑容與和藹的態度，至今仍令我印象深刻，更令人津津樂道的是一星期開放七天，雖然週末只到下午五點，迅速確實的館際合作效率，豐富的電子期刊以及各種有益使用者的課程：如 Med-line 的搜尋方法、ENDNOTE 軟體的使用...等等。另外安德森癌症中心的行政管理能力從清潔人員的工作時間及工作態度上可窺出端倪，清潔人員的工作時間是下午五點以後，從掃地、洗刷地板、吸地毯、清運垃圾、補充擦手紙到清洗盥洗台、馬桶皆非常用心，那跪著擦地板的清潔人員至今仍令我感動。

五. 豐富的學術演講.

安德森癌症中心每個工作天皆排有兩場以上的演講，針對不同人員的需要，安排適當的內容，有對病人與家屬的衛教，還有更多針對研究員或訓練醫師的演講，這些演講內容常對研究工作有助益。

在安德森癌症中心一年來，充分感受到其對於醫學發展的重視，及對於病人及家屬的照顧，不僅在臨床服務上用心，更致力於研究方面的增進，這是一個值得我們追尋的典範。

筆者個人的研究內容

筆者在美國的指導教授是 Dr. Dan Jones，在其指導下主要研究一
Follicular lymphoma (FL) 與 Follicular dendritic cell (FDC) 的關係，二 血
液病理的分子診斷技術。

一 FL 在西方國家相當常見約佔所有淋巴癌的 30 至 40%，顯微鏡下呈現
結節狀生長方式類似正常的 lymphoid follicles。FDC 存在正常的 lymphoid
follicles 中，在 B 細胞的生長發育分化中，FDC 透過 T 細胞的協同作用扮
演一個滋養、支持的角色。

FL 的腫瘤結節 (neoplastic follicles) 中也有 FDC 的存在，但 FDC 在每個
neoplastic follicle 中，當用不同的 FDC 標記作免疫組織染色時，可能呈現
不同程度的抗原表現，亦即有些腫瘤性結節的 FDC 其免疫組織表現型會
和正常 lymphoid follicles 中的 FDC 一樣，有些卻會部份或完全消失，我
們將前者稱為”生發中心樣 (Germinal center-like)”的 FDC，把完全消失的
稱為未分化(Undifferentiated) 的 FDC。

這些免疫組織表現型不同的 FDC 和 Neoplastic follicle 內的 T 細胞分佈有
特異的相關性也和 FL 的臨床表現行為有相關性。約有 40% 的 FL 會呈現
瀰漫性生長，在這些瀰漫生長的腫瘤區域則很少或完全沒有 FDC 的存在，
追蹤病例後我們從原發，續發或再發的病例配對上發現：隨著時間的進行
原本呈生發中心樣的 FDC 會逐漸喪失其抗原標記，往未分化的方向演變
而這種演變可能會促使 FL 由結節狀生長轉成瀰漫性生長而具有較差的預

後 (prognosis)。另外我們也發現 FL 在淋巴結以外的間質細胞 (stromal cells) 環境不若在淋巴結中健全。這種不同環境所造成的差異 (micro-environmental difference) 和間質細胞表現不同的 Adhesion molecules 及細胞激素有關，FL 的腫瘤細胞當產生瀰漫性變性的時候會喪失化學激素受器 (chemokine receptor) 的表現，使間質細胞無法再對腫瘤細胞產生吸引作用。

總而言之，FDC 或間質細胞與 FL 腫瘤細胞的關係相當密切的，因此針對 FDC 來設計新的治療方法以去除 FL 是個可以研究的方向。

二 血液病理分子生物診斷技術

T 細胞受體 (T-cell receptor, TCR) 基因重組 (gene rearrangement) 是 T 細胞單株增殖的一個標記，可用來區別良性或惡性的 T 細胞增殖。雖然某少部分的非腫瘤性 T 細胞增殖也可能出現單株的特性，腫瘤是一種單株增殖的觀念已被大家廣為接受。因此在可疑的 T 細胞增殖病變中，以分子生物技術偵測出單株增殖是診斷 T 細胞淋巴瘤的重要工具。

T 細胞加瑪鏈基因 (TCR gamma chain gene) 位於第 7 對染色體的短臂上，有二個固定區域基因 (constant region gene, C1 & C2)，五個接合段基因 (joining segment, J1, J2, JP, JP1, JP2)，及十四個變動基因 (variable gene, V)。這十四個變動基因可分為四群，分別是 VI 家族 (V1-V5, V5P, V6-V8), V II (V9), V III (V10)，以及 VIV 家族。人類 T 細胞加瑪鏈基因

共有 160 kb 的基因體 DNA，而且只有 16 kb 的 DNA 將 V11 與 JP1 隔開。

加瑪鏈基因較為簡單的架構及較早發生重組使其比 α, β, δ 鏈更適合做單株性 (clonality) 的測定。傳統的 T 細胞單株性測定方法為 β 鏈 DNA 墨漬分析法 (blot analysis)，其缺點為需要新鮮的組織，較多量的 DNA，耗時及耗力，與放射物質的使用。為了簡化這些程序，許多以 γ 鏈聚合鏈反應 (polymerase chain reaction, PCR) 為主的方法於焉產生，然而因 γ 鏈較為簡單的結構及小範圍的長度變動，使得標準膠質電泳法可能產生偽陽性的結果。為改善實驗結果就必須使用特殊的膠質系統及電泳條件，如變性梯度膠質電泳法 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)，單股結構多型性分析法 (single strain conformational polymorphism, SSCP)，或是用溫度梯度膠質電泳法 (temperature gradient gel electrophoresis, TGGE)。

基因掃描方法 (GeneScan assay) 是一種以電腦分析 PCR 產物螢光的新方法，它不需要使用特殊電泳技術。此方法的優點，除了對於決定螢光標示的 PCR 產物的精確大小有極高的敏感度之外，更可以對其高峰區 (peak area) 及高度之間作一比較。其自動化的決定大小及半量化的技術，可提供特殊細胞族群的特殊外型表徵及減少對結果的主觀解析。其原理為每個重組的基因放大後的片段，在高解析的微管電泳顯現後再以基因掃描軟體分析，一個高峰代表其螢光強度，每個片段的大小在與螢光標示的分子標記比較之後可被計算出來。多株生長的 T 細胞族群其 PCR 產物因不

同大小的基因片段被放大，會呈現高斯曲線的分布，單株生長的 T 細胞族群會呈現一個或二個重組基因放大的高峰，寡株生長的細胞族群其 PCR 分析則會在多株細胞族群的背景下呈現多個高峰。

建議

隨著臺灣生活水準的提昇與經濟的開發，癌症患者的比例將和歐美國家一樣越來越高，因此提昇癌症醫學的水平，是未來醫學教育的迫切課題。為使癌症病人的診斷、治療、護理照顧與生活品質均能更加進步，則有賴醫療團隊的組成，結合臨床醫師、護理人員、病理醫師、放射診斷與治療科醫師以及基礎研究的專家，發展以研究為基礎的治療方式，針對不同病人的腫瘤所表現不同的特徵，給予不同的治療策略。如乳房腫瘤，可以微陣 (micro-array) 方法來看腫瘤所牽涉的致癌基因 (oncogene) 或抑癌基因 (tumor suppressor gene) 或抑制轉移的基因 (metastasis suppressor genes)，或是與預後相關的因子，來訂定最佳的治療策略，則可提昇病人的存活率與生活品質，這種結合研究的團隊醫療，應是未來醫學發展的重要趨勢。