

出國報告（出國類別：進修）

西班牙 Salamanca 大學,學習歐洲流式  
細胞儀對於血液腫瘤疾病之分析與判讀

服務機關：衛福部臺中醫院

姓名職稱：林俊良 醫師兼主任

派赴國家：西班牙

出國期間：107.07.01-107.08.28

報告日期：107.11.02

## 摘要

多色流式細胞儀目前是診斷血液惡性腫瘤的主要工具之一,但是目前各國對於此儀器的使用缺乏一致性的標準化,所以前往西班牙 Salamanca 大學去學習 Euroflow system,因為它在歐洲與十幾個國家有共同標準化的流程,又是發展的原始地. 目前 Euroflow system 根據細胞的不同先初步使用 acute leukemia orientation tube (ALOT) 管和 lymphoid screening tube(LST)管去區分出成熟或者不成熟的細胞出了問題,再去判斷是否為骨髓系列的細胞或者是淋巴系列的細胞出了問題後,再進一步使用 acute myeloid leukemia (AML)/myelodysplastic syndrome (MDS)tube 管或者 B-cell chronic lymphoproliferative disorder(BCLPD)管去區分出何種細胞出了問題來找出最後病灶的癥結點出來.

## 目次

封面.....	01
摘要.....	02
目次.....	03
本文.....	04
目的.....	04
過程.....	04
心得及建議.....	06
照片分享.....	07

## 本文

### 「目的」

有鑑於血液惡性腫瘤疾病之發展快速,對於使用流式細胞儀診斷和判斷疾病之重要性日漸增加,所以赴國外學習多色流式細胞儀之分析與判讀來增加對疾病的了解與掌握

### 「過程」

本人由桃園中正機場出發,中途由阿姆斯特丹轉機至首都馬德里後再轉乘火車約兩小時到達 Salamanca. 並前往當地 Salamanca 大學附設血液幹細胞研究單位上課與學習.

Euroflow system 基本上是由 A LOT;LST;SST;PSCT 所組成的.

首先針對 A LOT(acute leukemia orientation tube)管,進行討論:基本上血球細胞都帶有細胞標記 45(CD45 marker)為橫座標後在配合上細胞顆粒多寡的 Side scatter(SSC)為縱座標,去分析出紅血球與血小板然後是不成熟的細胞和嗜中性球再來是單核球最靠右邊的則為成熟的淋巴球. 再根據細胞標記 34(CD34 marker)為橫座標後在配合上細胞顆粒多寡的 Side scatter(SSC)為縱座標,去區分出成熟和不成熟之血球細胞,其中最不成熟的血球幹細胞將落在最靠右側,CD34 最強的區域.另外細胞標記 117(CD117marker)為橫座標後在配合上細胞顆粒多寡的 Side scatter(SSC)為縱座標,也可去區分出成熟和不成熟之血球細胞,同樣不成熟之早期血球細胞同樣落在最右側為 CD117 陽性之區域.對於不成熟細胞的發展與分化也可藉由細胞標記 DR(DR marker)為橫座標後在配合上細胞標記 117(CD117 marker)為縱座標來判讀:正常不成熟細胞會落右側偏上之區域也就是 CD117 和 DR 同時 POSITIVE 區域.當正常細胞開始成熟分化過程,有一部分會往左上區域發展在往下延伸,也就是此時細胞標記會從 CD117 和 DR 同時 POSITIVE 區域到左上區域為 CD117 陽性但是 DR 為陰性區域,最後再往 CD117 和 DR 同時陰性的區域為座標得左下方發展.此路線為顆粒性球和紅血球的發展路線. 另一條路徑則由 CD117 和 DR 同時 POSITIVE 區域往右下發展至 CD117 陽性而 DR 為陰性之區域落再右下方得象限,此路徑為單核球和樹突狀細胞發育得正常路徑.而淋巴球分佈的區域則位於 CD117 陰性和 DR 陽性的區域從左下至右下分佈. 正常下會有少量的肥大細胞落在高位的 CD117 陽性而 DR 陰性的區域,總量不會超過細胞數的 1%.

在骨髓幹細胞不正常發育情況下會有以下幾種狀況產生:

1. 原本正常幹細胞位置由右上方往下掉代表細胞可能有分化問題可能會有無法分化的情形.或者是再經過治療後的病人可能殘存有一群部會分化的幹細胞代表將來可能要嚴密監控此群細胞族群大小已避免日後復發可能性.
2. 原始幹細胞族群往下分化的情形有中斷的現象,導致往左或往右發展無連續性或一致性.

3. 肥大細胞的總量有大量增加的情況,也視為不正常的現象,應當作是有問題.

在 lymphoid screening tube(LST)管方面,主要是針對不正常得成熟淋巴細胞增生去作檢查.首先用細胞標記 CD3(CD3marker)為橫座標後在配合上細胞顆粒多寡的 Side scatter(SSC)為縱座標,去圈選出最右側 CD3 陽性的細胞群,當作為 T 細胞的主要族群後,再去圈選出調節 T 細胞(Treg)後.再根據 CD8 為橫座標和 CD4 為縱座標去分出兩群 T 細胞出來,分別為輔助 T 細胞和毒殺型 T 細胞.通常在骨髓檢體內,毒殺型 T 細胞會多於輔助 T 細胞的量;反之在週邊血中輔助 T 細胞會略多於毒殺型 T 細胞.

在 B 細胞的圈選策略上,首先用細胞標記 CD19(CD19marker)為橫座標後在配合上細胞顆粒多寡的 Side scatter(SSC)為縱座標去圈選出最右側 CD19 陽性的細胞群,當作為 B 細胞的主要族群,再根據 Lambda 為橫座標和 Kappa 為縱座標去分出兩群細胞出來,在正常的情况下會有兩群分開的細胞群,而 Kappa 的量會多於 Lambda 的量,比數約為 2:1.在不正常的狀況下則會發現會只有單一群的 kappa 或者 lambda 存在而已,而這種現象稱為 light-chain restriction.代表為 B 細胞失調意味著可能有淋巴瘤的產生或者是漿細胞(plasma cell)的不正常增生.至於在非血液疾病方面可能風濕免疫的問題或者是固態腫瘤的存在或是感染的情況.

plasma cell dyscrasias(PCD)

在漿細胞方面,可藉由細胞標記 CD38 為橫座標後在配合上細胞顆粒多寡的 Side scatter(SSC)為縱座標去圈選出最右側 CD38 陽性的細胞群,當作為漿細胞的主要族群,再根據有無 Kappa/Lambda light chain restriction 的現象去圈選出正常和異常的族群來比較出疾病的嚴重程度.針對多發性骨髓瘤而言,要診斷此病還必須配合上臨床有無 CRAB : C=Hypercalcemia (高血鈣), R=Renal failure (腎衰竭), A=Anemia (貧血), B=Bone lesions (骨骼病灶),才可下此診斷.

### 「心得及建議」

本次出國進修,藉由學習八色流式細胞儀之分析,可以對於血液疾病的診斷和定量部分都有更深入的了解.以骨髓細胞化不良為例,還可進一步分析藉由 **AML/MDS tube** 配合 **merge** 的功能去完整的看嗜中性球,紅血球,單核球,巨噬細胞得分化路徑是否有異常存在.以 CD11b 為橫座標後在配合上 CD13 為縱座標而言是來觀看嗜中性球的分化路徑,在正常分化下是呈現出 V 字型類似 NIKE shape 的型狀但是在分化不良的狀況下,圖形可能演變成少了尾端的型狀或者 V 型消失的情形產生.

希望將來還有機會再去學習更進階的知識和分析的新技術來面對這日新月異的醫學發展並帶給病人更早期的診斷和更有效的治療.

## 照片分享



西班牙 Salamanca 大學正門一隅



於實驗室外老師與學員們的合影照片留念