

淋巴細胞亞群 流式細胞儀在臨床診斷中的應用 腫瘤科流式項目 參考指南



EVERY
event matters.


**BECKMAN
COULTER**
Life Sciences



前言

機體最重要的免疫細胞為 T、B、NK 三類淋巴細胞，其中 T 細胞主導細胞免疫，表面標記為 CD3；B 細胞主導體液免疫，表面標記為 CD19，分布於 B 細胞發育的各個階段；NK 細胞稱自然殺傷細胞，保護機體的第一道屏障，特異性抗原為 CD16、CD56。

淋巴細胞及其亞群的消長最能反映體內免疫功能的變化，發揮免疫監視和免疫應答，識別自我（誘導免疫耐受），排除異己（免疫應答）的作用，共同維護機體的內環境穩定。機體在正常情況下，各種淋巴細胞亞群（T，B，NK）保持一定的數量和比例，相互作用，免疫應答過強導致自體免疫疾病，抑制過強，導致一些腫瘤細胞逃避機制或病毒慢性感染。

臨牀上利用流式細胞技術分析淋巴細胞亞群表現，可以幫助監測和評估機體的免疫狀態。

淋巴亞群檢測項目的臨床意義及正常參考值範圍

項目名稱	檢測指標	臨床意義	參考值(%)	絕對技術 (個/L)		
淋巴亞群 (T,B,NK)	CD3 , CD3CD4 , CD3CD8 , CD19 , CD56 , CD4/CD8	CD3+CD4+: 輔助 / 誘導型 T 細胞，增高提示體內存在細菌病原微生物感染；降低提示體內存在病毒等病原微生物感染；	CD3+ 72±7	711-2351		
		CD3+CD8+: 抑制毒殺型 T 細胞，增高提示體內存在病毒、胞內菌等病原微生物感染；降低提示嚴重免疫抑制。CD4/CD8 升高提示免疫亢進，下降提示免疫抑制；	CD3+CD4+ 43±9	368-1632		
		CD56+: 自然殺手細胞，固有免疫細胞，是機體抗各類感染的重要因素，減少見於 EB 病毒、柯薩奇病毒、流感病毒感染等；	CD3+CD8+ 30±9	201-931		
		CD19+: B 細胞，參與體液免疫反應，增高時體內高親和力抗體也增加，見於各類細菌性感染；減少提示體液免疫功能低下，臨床可見反復感染，見於嚴重病毒感染。	CD4/CD8 1.42±0.89	0.63-3.39		
			CD3-CD16+56+	14.91±4.87	63-1013	
			CD3-CD19	11.56±2.54	74-534	
活化淋巴細胞免疫表型 / 幼稚型和記憶型 T 淋巴細胞	CD3HLA-DR , CD3CD25 , CD3CD45RA , CD3CD45RO	CD3+CD45RA+: 初始 T 淋巴細胞，提示 T 細胞生成與釋放減少；	CD3+HLA-DR+ 3.1±1.3			
		CD3+CD45RO+: 記憶 T 淋巴細胞，在感染性疾病，特別是急性感染性疾病會增高，相反在慢性感染性疾病中反而降低。	CD3+CD25+ 15.9±3.7			
		HLA - DR: MHC II 類分子，起抗原呈遞作用，在 T、NK 細胞為活化標志；	CD3+CD45RO+ 3.3±1.55			
		CD25: IL-2S 受體，表達於活化 T 細胞 活化 T 細胞增加，提示機體免疫應答活動增強，見於病原微生物感染等免疫功能被激發的情況，活化 T 細胞檢測在器官移植後免疫功能監測和術後感染監測中有重要意義。	CD3+CD45RA+ 20.51±3.64			
Th 亞群	IFN-γ/IL-4/ CD4/CD3	Th1 增多見於臨床各種炎症性疾病，如病原微生物感染，尤其是細胞內感染，Th2 增高見於臨床各種過敏性疾病、體液免疫性疾病、細胞外感染。	Th1 (CD3+CD4+IFN-γ+) 18.7±5.03			
			Th2 (CD3+CD4+IL-4+) 2.99±0.72			

一、建議檢測指標及臨床意義

1、淋巴細胞亞群檢測指標

1) T 細胞亞群

總 T 細胞 : CD3+

輔助誘導型 T 細胞 : CD3+CD4+

抑制毒殺型 T 細胞 : CD3+CD8+

T4/T8 : CD4/CD8

細胞毒 T 細胞 : CD8+CD28+

抑制性 T 細胞 : CD8+CD28-

活化的 T 細胞 : CD3+HLA-DR+

免疫調節性 T 細胞 (Treg) : CD4+CD25HiCD127Low

自然殺傷性 T 細胞 (NKT) : CD3+CD16+56 +

Th1/Th2 比值 : Th1 CD4+ IFN- γ + ; Th2 CD4+IL-4+

2) NK 自然殺手細胞 : CD56+

臨床意義

1. 監測腫瘤進展和評估疾病預後

腫瘤的進展和預後取決於腫瘤細胞的侵潤性與機體免疫功能的變化。因此連續監測機體的免疫狀態是對疾病的監控和預後的重要指標。患者免疫功能越低下，病期越晚，預後越差。

當病程進展、轉移或者復發時機體的 T 細胞、B 細胞、NK 細胞整體減少；CD4 和 CD4/CD8 下降，CD8 增高，並以抑制性 T 細胞 (TS) CD8+CD28- 為主。而外周血、淋巴結和腫瘤局部的代表免疫耐受的 D4+CD25+Treg 細胞增加，Th1/Th2 比值下降，此比值代表抗腫瘤能力，Th1 細胞分泌 IL-2, IFN- γ 以及 TNF- β ，在抗腫瘤免疫中發揮重要作用。

2. 腫瘤治療效果監控

腫瘤患者的治療效果明顯影響外周血淋巴亞群分布。臨床可通過術前後連續監測免疫功能來瞭解術後患者的恢復情況。有效手術或放化療，免疫治療會提升淋巴亞群比例，尤其 CD4/CD8 比值趨向正常健康組，促進 Th1/Th2 比值上升，向 Th1 漂移。

3. 各指標的變化趨勢

臨床意義	FCM 指標 (外周血)												
	CD3+	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	CD3- CD16+ 56+	CD3- CD19+	CD8+ CD28+	CD8+ CD28-	CD4+ CD25+ CD127-	CD4+/ CD8+	CD4+ CD45RO+	CD3+ HLADR+	Th1	Th2
腫瘤進展	↓	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↓		↓	↓	↑
預後不良	↓	↓	↑	↓			↑	↓	↓	↓			
復發轉移	↑	↓	↓	↓					↓	↓		↓	↑
有效手術	↑	↑	↓	↑		↑	↓	↓	↑		↑	↓	↓
有效化療	↑	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↓	↓		↑	↓	↑
放療	↓	↓	↑						↓				
免疫治療	↑	↑	↓	↑							↑		
生活質量差	↓	↓	↑	↓			↑	↑	↓	↓			

2、細胞週期及 DNA 倍體分析檢測指標

- 1) DNA 倍體
- 2) S 期細胞比率

3、各指標分析診斷腫瘤細胞的標準

- 1) 出現非整倍體細胞峰 , DI>1.1 或 DI<0.9 ;
- 2) 無明顯的異倍體 , 但 S 期 >15% ;
- 3) 無明顯的異倍體 , 但 G0/1 的 CV>10% , S 期在 10% -15% ;
- 4) S+G2/M >20%。

臨床意義

1. 有利於腫瘤的早期診斷和鑑別診斷

良性腫瘤或良性增生時不會出現非整倍體細胞 (DI>1) , 而惡性腫瘤則伴有相當數量的非整倍體出現 , 相當部分癌前病變也有非整倍體的出現。所以非整倍體細胞是判斷腫瘤惡變的一個重要標誌。

2. 有利於判斷腫瘤的預後

對於非整倍體的腫瘤 , 其惡性程度高 , 復發率高 , 轉移率高 , 預後差 ; 近二倍體和二倍體腫瘤 , 則預後較好。

4、細胞治療檢測指標

- 1) DC1 (體系 DC) /DC2 (淋巴系 DC)

DC1 (體系 DC) : CD (14+16) -CD85K+CD33+

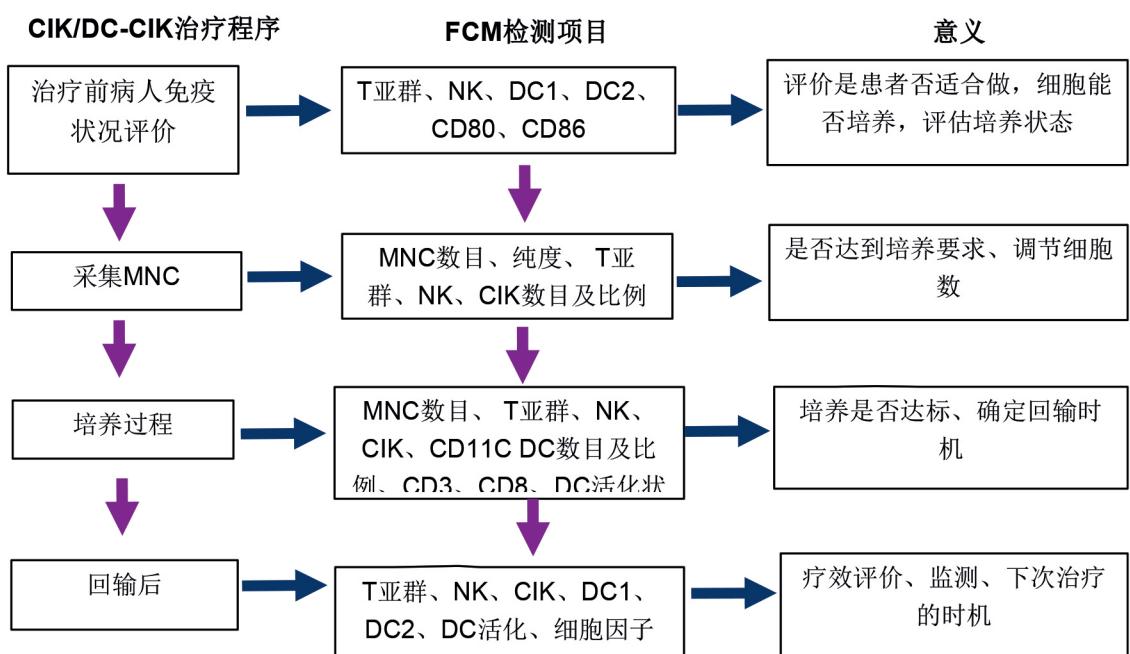
DC2 (淋巴系 DC) : CD (14+16) -CD85K+CD123+

- 2) DC 表面抗原 : CD80 , CD86 , CD83 , CD1a

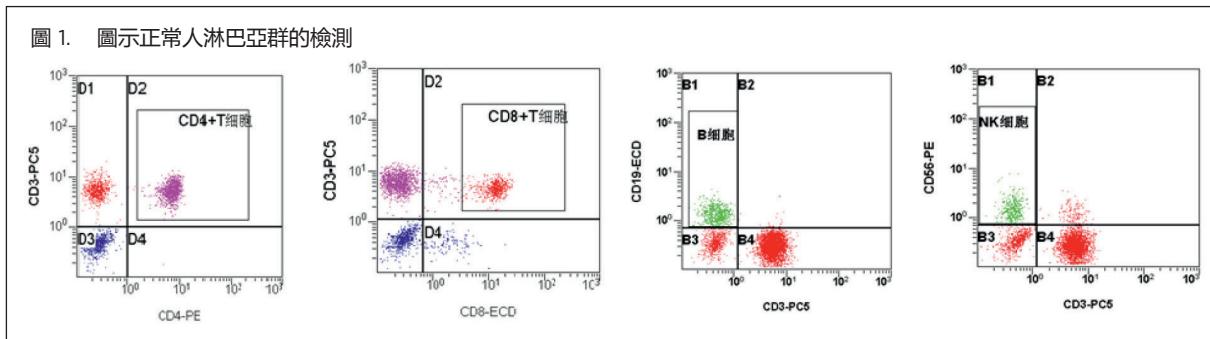
- 3) CIK 細胞 : CD3+CD56+

臨床意義

CIK 細胞與 DC 細胞共培養可使 CIK 細胞獲得更快的增殖速率和更強的抗腫瘤活性 , 利用 DC-CIK 免疫治療聯合放化療及手術治療 , 有助於減少惡性腫瘤的轉移與復發 , 進一步提高臨床療效。



二、應用舉例



四、推薦產品及貨號

組合	檢測項目	品名	貨號	規格
四色組合方案	T 淋巴亞群	CD45-FITC/CD4-PE/CD8-ECD/CD3-PC5	6607013	50tests
	TBNK	CD45-FITC/CD56-PE/CD19-ECD/CD3-PC5	6607073	50tests
		CD3-FITC	A07749	100tests
		CD4-PE	A07751	100tests
	淋巴細胞活化檢測 1	CD8-PE	A07757	100tests
		HLA-DR-PC5	A07793	100tests
		CD45-PC7	IM3548	100tests
		CD3-FITC	A07749	100tests
		CD25-PE	A07774	100tests
	淋巴細胞活化檢測 2	CD4-PC5	IM2636	100tests
		CD45-PC7	IM3548	100tests
		CD3-FITC	A07749	100tests
		IFN GAMMA-FITC	IM2716U	100tests
	Th 亞群	IL-4-PE	IM2719U	100tests
		CD4-PC5	IM2636	100tests
		CD45RA-FITC	A07786	100tests
		CD45RO-PE	A07787	100tests
三色組合方案		CD3-PC5	A07752	100tests
	DC1	CD(14+16)-FITC/CD85k-PE/CD33-PC5	A23413	50tests
		CD(14+16)-FITC/CD85k-PE/CD123-PC5	A23416	50tests
	DC2	CD80-FITC	IM1853U	2ml
		CD86-PC7	B30648	0.5ml
		CD1a-PE	A07742	100tests
		CD83-PC5	IM3240U	1ml

兩色組合方案	淋巴細胞活化檢測	CD3-FITC/HLA-DR-PE	IM1295U	50tests
	淋巴細胞活化檢測	CD38-FITC	A07778	100tests
		CD8-PE	A07757	100tests
其它	輔助試劑	DNA Prep Reagent kit	6607055	100 tests
		Flow-Count Fluorospheres	7547053	20ml/200tests
		IntraPrep Permeabilization Reagent	A07802	50 tests
		OptiLyse C No-Wash Lysing Solution	A11895	200tests
		Flow-Check Pro Fluorospheres	6605359	3*10ml
		Immuno-TROL Cells (全血品質控制細胞)	6607077	60T
		Immuno-TROL low cells (全血品質控制低值細胞)	6607098	60T
		Isoton III Diluent (鞣液)	8546733	20L
		Cleaning Agent (清洗液)	8546930	5L

參考文獻：

1. 臨床流式細胞學檢驗技術 吳麗娟 主編，北京，人民軍醫出版社，2010.8 ISBN 978-7-5091-3973-8
2. 臨床流式細胞分析 王建中 主編，上海科學技術出版社，
3. 齊紅，石虹，劉玉俠 . 253 例惡性腫瘤患者外周血 T 細胞亞群的檢測及其臨床意義分析 [J]. 中國實驗診斷學 ,2009,(11):1589-1590.
4. 肖剛，趙則 . 結直腸癌患者外周血中 CD4+、CD45、RA+ 和 CD4+、CD43、RO+ T 細胞的變化意義 [J]. 中華腫瘤雜志 ,2003,(04):362-364.
5. Wolf AM , Wolf D , Steurer M , et al.Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients [J] .Clin Cancer Res , 2003 ; 9 (2):606- 12.
6. Sasada T , Kimura M , Yoshida Y,et al.CD4+CD25+regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies;possible involvement of regulatory T cells in disease progression [J] .Cancer , 2003 ; 98 (5):1089-99.
7. Ito N, Suzuki Y, raniguchi Y, et al. Prognostic significance of T helper 1 and 2 and T cytotoxic 1 and 2 cells in patients with non small cell lung cancer [J] . Anticancer Res, 2005, 25(3B):2027-2031.
8. Botella Estrada R, Escudero M, O Connor JE, et al. Cytokine production by peripheral lymphocytes in melanoma [J]. Eur Cytokine Netw, 2005, 16(1):47-55.

更多詳情，敬請訪問 www.beckmancoulter.com.tw

fast track to success.

美商貝克曼庫爾特有限公司臺灣分公司 生命科學事業部

地址：臺北市106敦化南路二段216號8樓

電話：0800212134

Email：lstaiwan@beckman.com

