

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。

臨床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+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 ; 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 ; 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 , 臨床可見反覆感染 , 見於嚴重病毒感染。 | CD3+ | 72±7 | 711-2351 |
| | | | CD3+CD4+ | 43±9 | 368-1632 |
| | | | CD3+CD8+ | 30±9 | 201-931 |
| | | | 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+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。 HLA - DR: MHC II 類分子 , 起抗原呈遞作用 , 在 T、NK 細胞為活化標志 ; 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+HLA-DR+ | 3.1±1.3 | |
| | | | CD3+CD25+ | 15.9±3.7 | |
| | | | CD3+CD45RO+ | 3.3±1.55 | |
| | | | 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+CD25^{Hi}CD127^{Low}
- 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鑒別診斷

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 (髓系 DC) /DC2 (淋巴系 DC)

DC1 (髓系 DC) : $CD (14+16) - CD85K + CD33+$

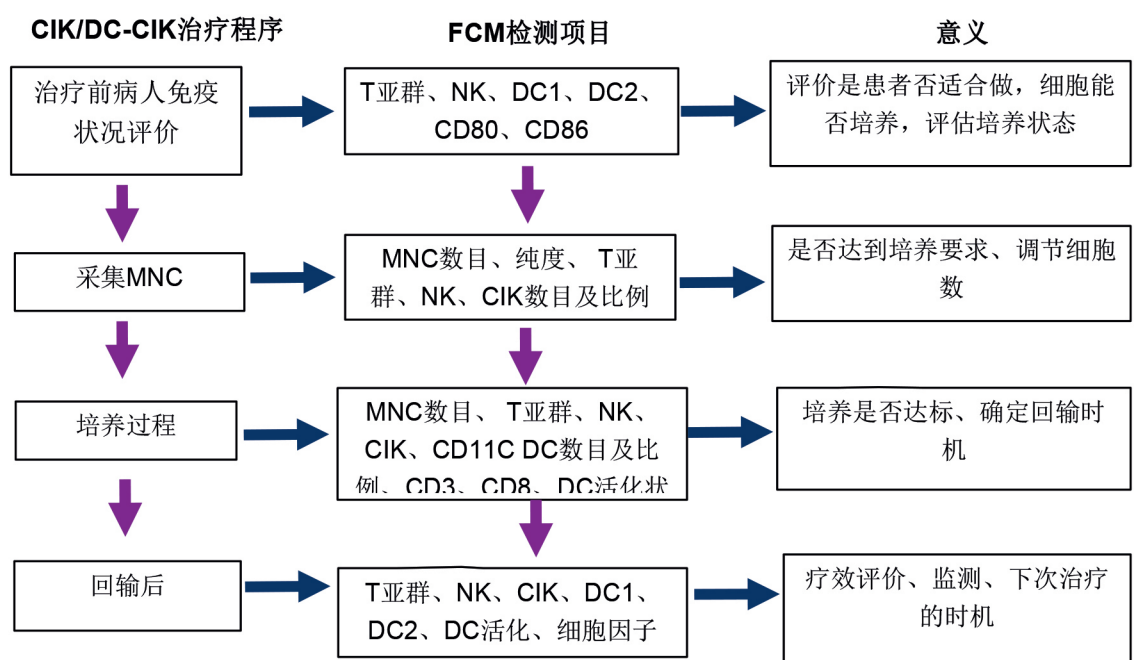
DC2 (淋巴系 DC) : $CD (14+16) - CD85K + CD123+$

2) DC 表面抗原：CD80，CD86，CD83，CD1a

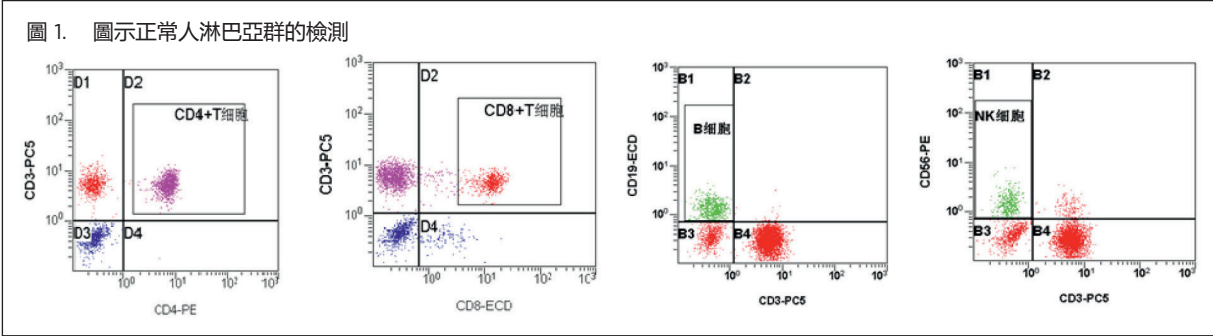
3) CIK 細胞：CD3+CD56+

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 |
| | 淋巴細胞活化檢測 1 | CD3-FITC | A07749 | 100tests |
| | | CD4-PE | A07751 | 100tests |
| | | CD8-PE | A07757 | 100tests |
| | | HLA-DR-PC5 | A07793 | 100tests |
| | | CD45-PC7 | IM3548 | 100tests |
| | 淋巴細胞活化檢測 2 | CD3-FITC | A07749 | 100tests |
| | | CD25-PE | A07774 | 100tests |
| | | CD4-PC5 | IM2636 | 100tests |
| | | CD45-PC7 | IM3548 | 100tests |
| | Th 亞群 | CD3-FITC | A07749 | 100tests |
| | | IFN GAMMA-FITC | IM2716U | 100tests |
| | | IL-4-PE | IM2719U | 100tests |
| | | CD4-PC5 | IM2636 | 100tests |
| 三色組合方案 | 記憶 T 幼稚 T 檢測 | CD45RA-FITC | A07786 | 100tests |
| | | CD45RO-PE | A07787 | 100tests |
| | | CD3-PC5 | A07752 | 100tests |
| | DC1 | CD(14+16)-FITC/CD85k-PE/CD33-PC5 | A23413 | 50tests |
| | DC2 | CD(14+16)-FITC/CD85k-PE/CD123-PC5 | A23416 | 50tests |
| | DC 表面標志 | 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 |
| | 細胞週期檢測試劑盒 | DNA Prep Reagent kit | 6607055 | 100 tests |
| 其它 | 輔助試劑 | 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 (鞘液) | 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]. 中華腫瘤雜誌, 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