

出國報告（出國類別：出國進修）

①

新加坡國立大學醫院暨癌症中心進修報告

服務機關：血液腫瘤科

姓名職稱：鄧齡喬 醫師

派赴國家/地區：新加坡

出國期間：113 年 8 月 04 日至 113 年 8 月 30 日

報告日期：113 年 9 月 10 日

摘要

(摘要約 200-300 字)

流式細胞儀檢測在血液疾病的診斷與疾病監測中佔有重要地位，其中流式細胞儀應用於監測微小殘餘疾病(minimal residual disease, MRD)，能夠幫助評估治療反應並指引臨床決策，有助於改善疾病的監測和患者治療效果。本次參訪新加坡國立大學醫院的流式細胞儀實驗室，學習流式細胞儀的判讀，其中以多發性骨髓瘤的 MRD 為最主要目標，除此之外亦參觀幹細胞實驗室，學習如何更有效率的處理和儲存造血幹細胞，以及實驗室品質管理。除技術性與知識性的學習外，更看見新加坡國立大學的專業人士們對於專業與品質的堅持，令人敬佩。

關鍵字：新加坡國立大學醫院、流式細胞儀、造血幹細胞實驗室

目 次

一、 目的	1
二、 過程	2
三、 心得	9
四、 建議事項	11
(至少四項，包括改進作法)	
(一) 血液科內 flow cytometry 發展：開始進行多發性骨髓瘤 MRD 項目。	
(二) 著手血液科內 flow cytometry 的標準檢體檢測，改善流式細胞儀報告品質。	
(三) 建立科內流式細胞儀檢驗結果資料庫。	
(四) 對於幹細胞存放，建議使用雙層袋以減少破裂風險。	
五、 附錄	11

一、 目的

近年來，流式細胞儀(Flow cytometry)在血液學及相關疾病中具有關鍵角色，因其能夠快速且精確地分析血液樣本中單個細胞的多重特徵。目前在血液科疾病最重要的兩個運用為

1. 診斷血液惡性疾病：

白血病和淋巴瘤：可用於診斷並可以分類不同的白血病和淋巴瘤，因為它可以通過識別異常白血球表面抗原來進行分析，相對於傳統的抹片和病理檢驗，可以提供更快速且準確的結果。

2. 監測疾病進展和治療反應：

對於患有白血病或多發性骨髓瘤的患者，流式細胞儀可用來追蹤微小殘留病灶 (minimal residual disease, MRD)，即在治療後殘留的少量癌細胞。檢測 MRD 對於評估患者對治療的反應及制定後續治療策略非常重要。其中，多發性骨髓瘤的 MRD 目前在相關研究領域的重要性日趨重要，雖然還無法像急性淋巴性白血病改變後續治療方式，但在相關領域已經被視為非常重要的研究指標，目前臺灣尚未全面使用這樣的方式評估疾病治療效果。

另外，幹細胞移一直是血液腫瘤科疾病相當重要的治療手段，近年來台中榮總血液腫瘤科持續精進收集幹細胞的效率，但仍有部分的病人會遇到幹細胞收集失，或者是輸入幹細胞之後，病人未成功植入(engraftment failure)的狀況，目前並沒有很好的監測方式，也缺乏研究植入失敗的原因。

新加坡國立大學醫院（其中包含新加坡國立大學癌症研究中心）是新加坡唯一的大學醫院，在 2024 年世界醫院排名中高居第 79 名，是新加坡非常重要的癌症相關研究中心，新加坡國立大學醫院目前也成立專責的 flow cytometry 實驗室與獨立的 bone marrow/stem cell 實驗室，兩者皆在當地為首屈一指的實驗室。

本次進修有兩大目的

1. 參訪流式細胞儀實驗室：

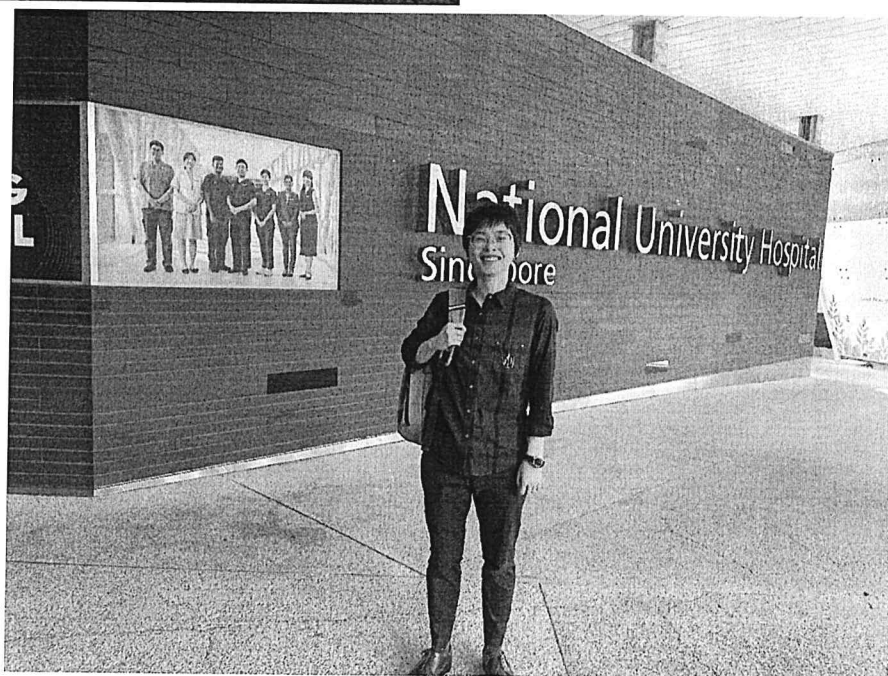
了解當地流式細胞實驗室運作模式與操作上的異同，學習流式細胞儀判讀，了解其實驗室進步需要參與課程與國際認證，最重要的是，學習多發性骨髓瘤殘餘癌細胞 (MRD) 流式細胞儀相關操作與判讀。

2. 參訪幹細胞實驗室：

了解收集幹細胞流程的差異，並學習當地對於幹細胞品質的控管與監測，了解目前新加坡對於幹細胞之後續製備與保存的方式，並希望將更好的方式帶回台灣。

二、 過程

新加坡國立大學醫院(National university hospital of Singapore, NUH)是新加坡唯一大的大學醫院，在 2024 年世界醫院排名中高居第 79 名，位於新加坡西半邊的肯特崗。NUH 是一間三級轉診醫院及醫療科學學術中心，共設有 1,239 張病床，服務超過 67 萬門診病人和 4.9 萬住院病人。

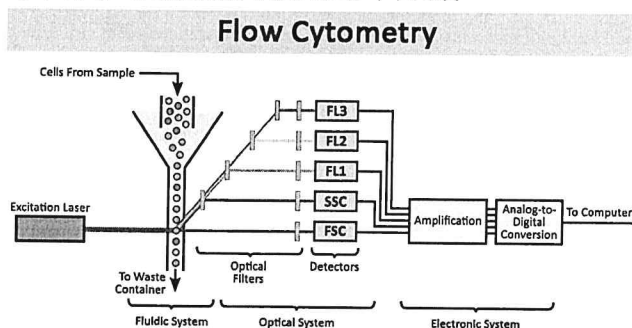




(一) 流式細胞儀實驗室

NUH 的流式細胞儀實驗室與骨髓抹片判讀實驗室一起隸屬於該醫院檢驗部，專職於流式細胞相關檢驗的醫檢師有五位，另有 5 位醫師(四位血液科與一位病理科)為專潤醫師，負責流式細胞儀結果判讀，一年處理的檢體量約為 1300 個檢體，包含周邊血液、骨髓、淋巴結、脊髓液等等檢體，涵蓋範圍廣泛。此實驗室目前由 Dr. LEE SHIR YIN 主持，而資深醫師 Dr. Liu Te Chih 參與教學。

1. 學習流式細胞儀判讀的基本知識



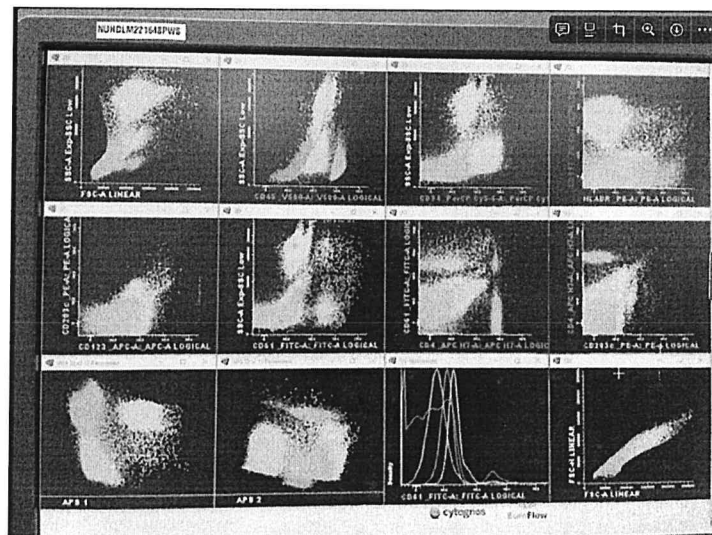
(1) 流式細胞儀的主要組成部分：

- 流體系統：經過激光束時，每個細胞都會被單獨分析。
- 激光：激光提供光源，用於激發與抗體或其他細胞標誌物結合的螢光染料。可以使用不同波長的多種激光，同時檢測不同的螢光信號。
- 檢測器：

**光電倍增管 (PMT) **捕捉和測量來自散射光和螢光信號的光。這

些檢測器將光信號轉換為電信號，供軟體進行分析。

- 螢光染料/抗體：
細胞通常會標記上與特定抗體結合的螢光染料，這些抗體會結合到抗原上(不限於細胞表面，也可以在細胞內部)。這些螢光標誌物幫助辨認細胞表面或內部的特定蛋白質或其他分子。
- 電子與數據分析：
檢測器的電信號會轉換為數位數據。流式細胞儀軟體對這些數據進行解讀，生成如直方圖或散點圖等圖表，顯示細胞的各種特徵。
- 醫師在判讀時，就是要分別出不同細胞族群(gating)，並且針對各種細胞族群特性做描述，進一步討論什麼是正常、什麼是異常。



2. 了解流式細胞儀實驗室

目前台中榮總的流式細胞儀規模尚小，也還尚未建立完整的檢驗項目。

劉醫師針對流式細胞儀實驗室的發展提出以下建議：

(1) 必須建立每個檢查的標準樣本

每台機器與每個實驗室的染色特性都可能會有差異，需要收集每一種 panel 與每一種檢體(ex. Bone marrow, peripheral blood...) 的正常檢體，在每一個項目 6-10 個正常檢體，建立正常的標準樣本。

其正常檢體中，在判讀時最好包含少數的 population, ex. Dendritic cells, basophils...，才能建立完整樣本。另外，當檢察系統更新（包含抗體更新）時，都需要讓數個檢體同時進行兩種檢驗，重新校正。

另外，看似同樣的項目在不同 panel 其實不同，不能省去在不同 panel 校正的過程。

(2) Euroflow external quality assessment

Euroflow 為現在世界上主要的 flow 判讀系統之一，透過 Euroflow external QA, 可以更確認跟上世界的 flow cytometry 品質。

(3) Software: Infinicyt™ Software access

目前在台中榮總已有 Infinicyt 可使用，但仍需要雙螢幕改善判讀效率。

(4) Autogating by Euroflow

Euroflow 為建立更標準化的報告品質，線上提供部分項目的自動化 gating，可降低遺漏異常細胞的可能性，尤其是 MRD。

透過上傳檢驗完成但是尚未分析的 FSC file，Euroflow 可回傳分析完的檔案，但仍需要醫師再次確認是否為異常細胞，此功能需要進階的 Infinicyt 帳號版本。

(5) Flow cytometry discussion meeting

若要讓 flow 長期發展，劉醫師建議要定期舉辦 flow cytometry 相關討論會，將 flow cytometry 的結果與臨床、病理和抹片結果互相比較討論，更可以加速團隊進步。

(6) 建立標準的報告模式

除了描述異常細胞的量之外，也需要描述異常細胞之特性，以及正常細胞的異常變化(ex. MDS tube)，另外，疾病先前的治療也會影響到異常細胞的表現，在檢驗及報告系統中也要提供特定治療的相關資訊(ex. ALL, post-anti-CD19 treatment or MM post-anti-CD38 treatment)。

(7) 建立檔案的共用儲存空間

尤其在 MRD 判讀時，需要知道該患者先前異常細胞的表現模式，所以需要一個完整的共用空間，讓判讀醫師可以快速查找到患者先前的結果，增進 MRD 判讀的正確性與效率。

3. 特定項目之流式細胞儀判讀：

(1) Acute Lymphoblastic Leukemia Minimal Residual Disease (ALL MRD)

ALL MRD 目前在 ALL 治療上非常重要，甚至影響到後續治療。

(2) Multiple Myeloma Minimal Residual Disease (MM MRD)

在多發性骨髓瘤 (MM) 的臨床試驗中，隨著新型療法改善了患者的預後，估算無進展生存期 (PFS) 和總生存期 (OS) 的優勢變得越來越具有挑戰性。微小殘留病灶 (MRD) 陰性已經在個臨床試驗中，被證實是一個重要的臨床試驗結果，而且與後續 PFS 有強烈關聯性。因此 MRD 在多發性骨髓瘤的未來，將有越來越重要的臨床價值。

根據 EVIDENCE meta-analysis: 對 MRD 的治療效果很可能最終展示出對 PFS 的治療效果，這表明 MRD 可能是一個早期臨床終點，合理地預測 MM 的臨床益處，這可能被用來支持加速批准，從而加快新藥對 MM 患者的供應。

(Landgren, Ola, et al. "EVIDENCE meta-analysis: evaluating minimal residual disease as an intermediate clinical end point for multiple myeloma." Blood 144.4 (2024): 359-367.)

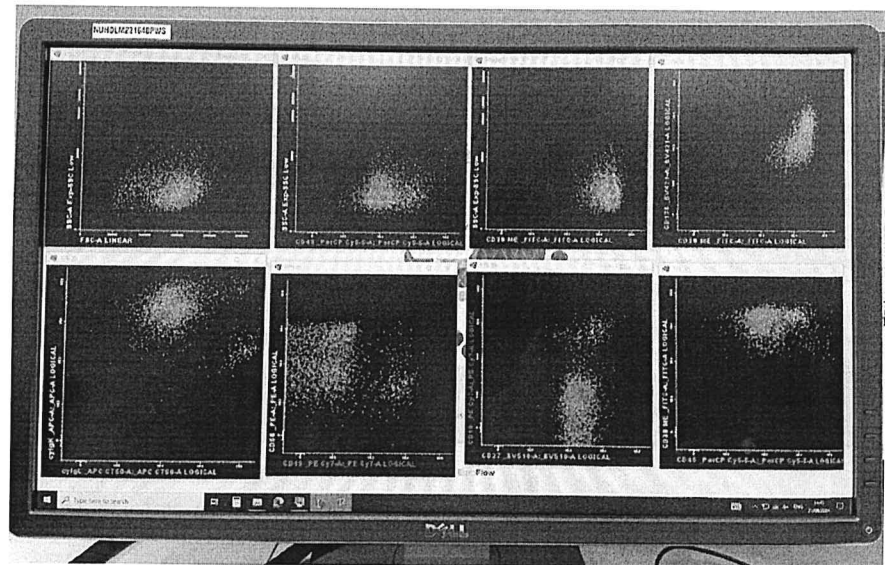
- Normal plasma cells: CD38++, CD138+, CD45 dim, medium SSC, CD81+ (as B lymphocyte), CD56-, CD19 +/- aka. Dim (lower than B cell)

(1/3 negative), CD27 dim, CD117

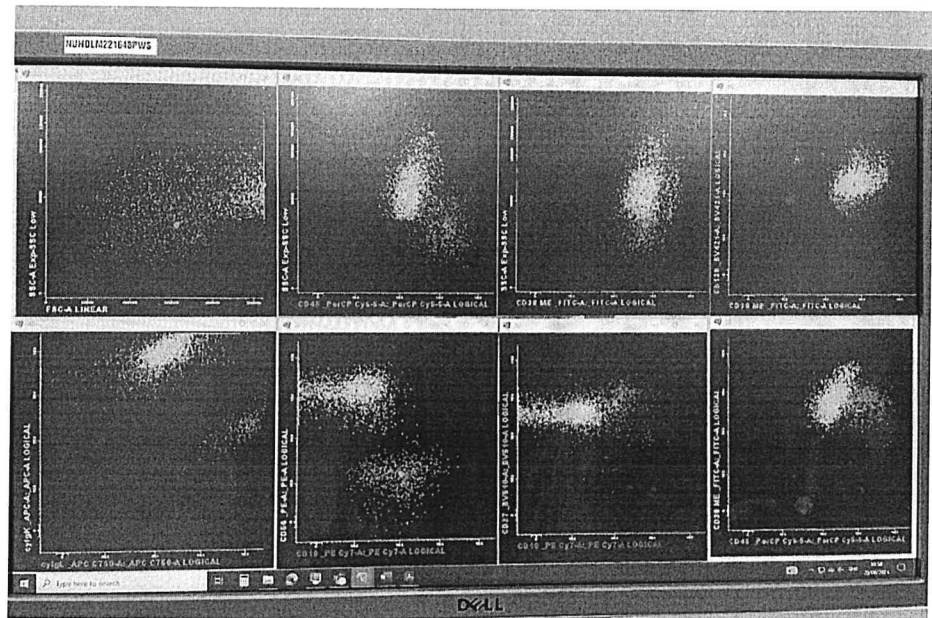
-No light chain restriction.

- Abnormal plasma cells: CD38+ (dim), CD138+, CD45 increased, CD56+, CD19-, CD27- (reduced)

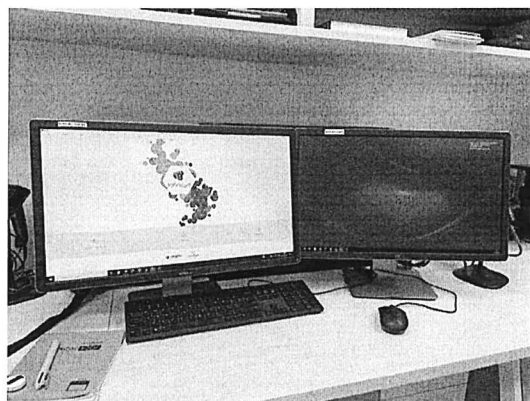
With light chain restriction. CD117+, CD81-



↓ 正常與不正長細胞比較



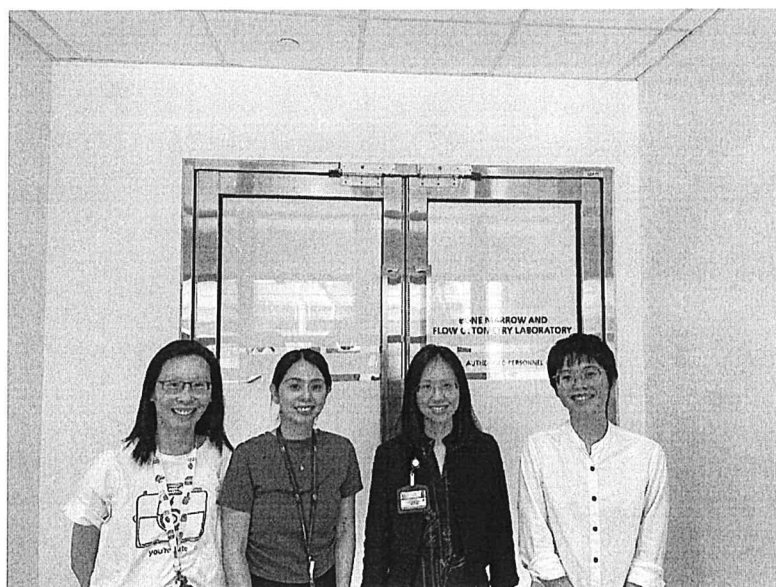
Flow cytometry 醫師判讀工作站: analyzing station



與 Flow cytometry 醫師團隊及李醫師合影



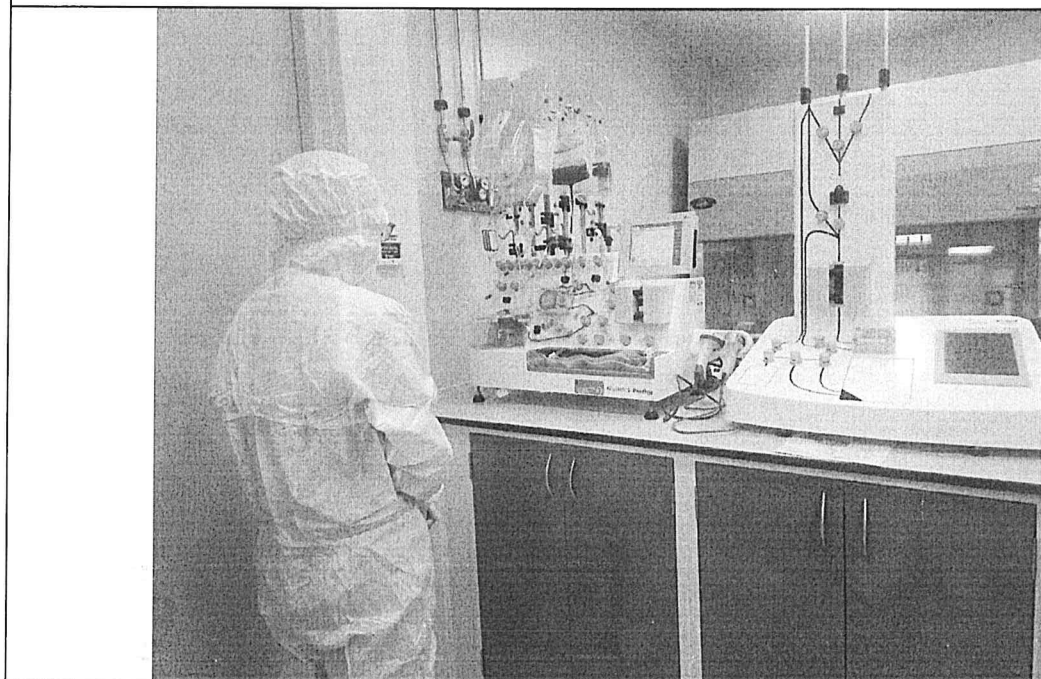
與 Flow 技術團隊合影



(二) 幹細胞實驗室

NUH 是一個很大幹細胞中心，每年進行幹細胞收集的人次高達 300 人，對於幹細胞的處理也不限於冷凍保存，也包含細胞的處理和製備。在處理幹細胞時，全程會在無塵室中進行。

參觀幹細胞處理室



1. 細胞保存

- 新加坡幹細胞全體為液態氮保存。保存溫度更低，品質更好，且 10 年幹細胞存活率高達 90%
- 冷凍袋破掉預防：
 - 第一天的第一批一定分成兩包收集，絕對不會只有一包（只有一包破掉就直接完全沒有幹細胞）
 - 冷凍袋為兩層，兩層裡面都無菌，萬一破掉可以立刻拿會來救援。剪一個小洞重新處理到新的可以輸注的一袋裡面，但需要打抗生素

2. 自體幹細胞之品質管控

- 每一袋 stem cell 都會留三個管試管做留存檢驗: for Sterility, for Viability, for Stability
- Graft failure 的評估: IF graft failure or delayed engraftment: check CRF, and CFU assay。

3. 外取異體幹細胞之評估與處理

- check CD34 viability or TNC
- Cellularity

- Sterility: culture
- 整袋拿回來可以高達 1.2-2 公升, 這邊會先 remove RBC and remove plasma (not buffet coat)
 - to prevent TACO
 - 加速輸注速度, 拿掉 RBC 會快很多
 - 拿掉 RBC 也可以減少後續的 hemolysis (if ABO incompatible)

4. 無菌評估

- 這邊都是在冷凍之前收集
- aerobic and anaerobic: 做過當地 validation, 發現只要 1 ml 就可以證實效果跟 10ml 一樣好 → 通常有問題的兩天內會長出來
- 也做黴菌感染評估, 尤其是 aspergillosis
 - 總共培養 30 天, 但大部分 14 天內會長, 也就是所有 stem cell 都會 > 14 天才輸注回去給病人

(三)心得

首先感謝醫院與榮康基金會給我這個機會到新加坡進修一個月，也感謝滕傑林主任對進修的各種支持與幫助。這一趟參訪之旅收穫良多，也希望真的能將學習的成果帶回科內，讓血液科慢慢地變得更好。

在新加坡國立大學醫院這一個月，感謝各位師長用心地回答各種問題，讓我對於 flow cytometry 的判讀進步許多，從零開始到能夠獨自找出異常細胞，非常感謝各位新加坡醫院師長的費心指導。這一個月，發覺 flow cytometry 真的是十分快速且準確的診斷工具，相較於快速判讀血液抹片檢查，它提供了更客觀準確的細胞抗原資訊，又能提供比病理更快速的檢驗結果。這些並不是代表流式細胞儀已經能夠取代血液抹片和病理檢驗，而是在這兩者的基礎上，提供一個相輔相成的結果，既可以有抹片的快速，又可以提供如病理般客觀的診斷。新加坡國立大學的流式細胞儀實驗室已發展約 20 年的時間，才能提供如此完善與精進的流式細胞儀判讀結果，這些時間的累積不僅僅是技術上的進步，更是醫師們對於流式細胞儀發展的遠見，與時時追求進步的堅持，還有判讀上的經驗累積，讓他們成為在單一項目就有五位技術員與五位醫師的專業實驗室，提供血液科病人快速準確的結果。流式細胞儀的判讀並不是光是在電腦上圈圈細胞如此容易而已，後面需要對於各種血液疾病與異常細胞特性的深厚了解，這也是新加坡仍堅持讓醫師發報告的重要原因之一，也讓他們可以一直維持相當的報告品質。

同樣的，在參訪新加坡國立大學醫院的幹細胞實驗室與製備的過程也是令人大開眼界，幹細胞實驗室對於細胞成品的堅持令人欽佩，另外在技術上，他們也能提供病人更多分離不同細胞的幹細胞成品，讓病人能擁有的治療更加多元。這一切，靠的是技術人員們對於品質的堅持，在每一個細節都不會妥協的精神。

在新加坡除了知識與技術的學習，更加欽佩的是看見他們對於專業的尊重，與對於品質的無止盡堅持。新加坡國立大學醫院的血液科醫師已經走向高度專業分工，有些醫師專門做血癌、有些做良性血液疾病、有些做多發性骨髓瘤，也有醫師就專職在發展更進步的檢驗方式。雖然走向高度專業，但專業之間是非常互相尊重的，他們也透過很多的討論會，讓不同專業與職類之間切磋出對病人最好的做法。除此之外，每個實驗室對於標準流程皆嚴格遵守，且實驗室定期都會做品質檢驗，檢測包含流式細胞儀螢光抗體染色的結果是否和以前一致，或是在幹細胞實驗室定期抽檢幹細胞成品，確保保存的效果與無菌，這都是我們需要學習的。持續對於自己成果的嚴格要求，並不停的追求進步，真的令人滿心敬佩。

這一個月新加坡的參訪之旅，讓我對於血液科實驗室專業工作更大開眼界。除了技術性與知識性的學習，新加坡大學醫院所有醫師與工作人員那自我嚴格要求與追求進步卓越的態度，真的讓人深深欽佩，值得我們效仿與學習。心靈與知識都收穫良多的一個月，再次感謝醫院給我的機會！

三、 建議事項

(至少四項，包括改進作法)

(一) 血液科內 **flow cytometry** 發展：開始進行多發性骨髓瘤 **MRD** 項目。

目前已建置多發性骨髓瘤相關檢驗項目(Plasma Cell Dyscrasia)，進而推廣到多發性骨髓瘤的 MRD，鼓勵科內醫師開立，增加科內的討論與經驗。

(二) 著手血液科內 **flow cytometry** 的標準檢體檢測，改善流式細胞儀報告品質。

依照新加坡醫院劉醫師建議，將重新檢視科內目前流式細胞儀的項目，建立個項目的標準檢體，改善品質。

(三) 建立科內流式細胞儀檢驗結果資料庫。

流式細胞儀分析，尤其在 MRD 和疾病復發時，相當倚賴初診斷時的細胞表現特性，需要建立每個病人診斷與追蹤過程的檢驗結果資料庫，方便查找與比較，也能進行系列追蹤。

(四) 對於幹細胞存放，建議使用雙層袋以減少破裂風險。

科內以前曾經發生過冷凍的幹細胞保存袋脆化，細胞累出的事件，若有雙層袋，可以避免這些幹細胞直接因為漏出報廢，每一 ml 的幹細胞對病人來說都非常珍貴。

四、 附錄

(無)