

出國報告(出國類別：進修)

美國杜克大學生物醫學工程進修

進修心得報告（國際訪問學者）

服務機關：國防醫學院 婦產學系

姓名職稱：林宜欣、教師

派赴國家/地區：美國／北卡羅萊州杜克大學

出國期間：112年12月02日至113年08月31日

報告日期：113年09月08日

摘要:

本次去美國杜克大學生物醫學工程學院 Dr. John W. Hickey 實驗室進修，主要目的是學習單一細胞分析方法的技術，高維度螢光影像系統(CO-Detection by indexing, CODEX)來分析單一細胞，取得高維度的數據資料，包括有細胞在組織中的空間關係資訊。將此技術帶回國防學院，活化貴重儀器中心的使用。這個新穎的研究平台可以研究及建立疾病的免疫型態表型，以研究複雜婦科癌症腫瘤微環境。此外，進修期間擴展視野，認識各領域的新朋友，應用這項技術，未來預期將複雜的婦科腫瘤分子模型依照腫瘤環境分類，也順利在 2024 年獲得科技部三年期計劃補助。出國進修學習到的這些新知與新技術，將帶回學校及醫院，開始研究平台的建立及繼續執行。總結來說，此次在杜克大學的學習經歷不僅豐富了我的專業技能，更提高了我對子宮內膜癌複雜病理機制的理解。藉由出國的訓練期間專心撰寫計畫，也在今年順利取得科技部三年期計畫，這些都將促進我回國後在國防醫學中心進行的相關研究和臨床應用，特別是在探索新的治療目標和改進病理診斷方法方面。此外，CODEX 技術的實際應用將有助於我們更準確地分類子宮內膜癌，並為患者提供更個性化的治療選項。

關鍵詞： 索引協同檢測染色法(CODEX)

目次	頁次
封面.....	1
摘要.....	2
本文.....	4-9
目的.....	4
過程.....	5
心得.....	6-7
照片.....	8-9

本文：

目的：

子宮內膜癌(endometrial cancer, EC)是已開發國家中最常見的婦科惡性腫瘤，近年來，全球內膜癌發生率逐年上升，主要跟人口高齡化及肥胖人口增加有密切相關。根據衛福部最新癌症登記報告，子宮內膜癌是台灣女性侵襲性惡性腫瘤發生率第 5 名，一年新診斷個案約 3000 人，每 10 萬人口粗發生率約為 25.43 人。手術後的輔助治療使用傳統病理學的分類預測復發風險來制定輔助治療計畫。然而，臨床上偶而會遇到很早期的內膜癌患者手術後幾年即發生遠處肺轉移的狀況，或是晚期但治療後無疾病存活期很長，傳統的風險分層系統基於組織形態學特徵，如：分化和細胞特徵，這些特徵在婦科病理學家中因為判讀標準不一致的人為差異讓再現性(reproducibility)不佳。導致臨床實踐中難以將生物學多樣性的腫瘤聚集在一起進行研究的臨床試驗。傳統的病理分類方式無法針對子宮內膜癌的分子異質性做出區別，因此發展出分子生物學分類。子宮內膜癌下一個世代的輔助治療決策，將整合腫瘤分期與分子分型，然而，依照目前臨床使用的分類流程，需要使用多種實驗方式，包括突變分析，利用定序先分出 POLE 突變、再使用組織免疫化學染色(IHC)分出 MMRd 與 p53 異常，多步驟的分類在臨床上實用性不高，同時病理染色的判讀存在人為差異性。本次至杜克大學學習高維度的索引協同檢測染色法(CODEX)，主要借重 CODEX 將腫瘤微環境做進一步分析分類。透過 CODEX 技術，我們能夠在單一組織切片上同時標記並視覺化多達 50 種不同的蛋白標記，這一點對於精確分析腫瘤微環境中的細胞類型及其相互作用至關重要。例如，在子宮內膜癌的研究中，利用 CODEX 可以詳細地映射免疫細胞的分佈和活性狀態，從而更好地理解免疫細胞如何在腫瘤形成和進展中發揮作用。

過程：

這次進修在 2023 年 12 月 03 日抵達美國，很順利的在第一週就確定好住宿安頓生活。

Dr. John W. Hickey 本身為工程背景，實驗室主要分成三大研究領域：高維度索引協同檢測染色螢光影像(CO-Detection by indexing, CODEX)、程式語言開發優化影像處理分析、免疫細胞實驗。CODEX 的研究技術都會得到大量單細胞的影像訊息，是另一種生醫的大數據研究，因此如何分析數據得到有意義的統計結果至關重要。

此次進修為期約 9 個月，進修前期主要參與 Spatial omics 空間組學課程，一週 3 小時總共 30 堂課，學習空間體學概念、論文閱讀、小組討論、如何使用程式語言將影像分析量化為數據，數據分析的邏輯概念。在完成這門關於空間組學的課程之後，我對這個領域有了更深刻的理解和認識。空間組學將單細胞分析技術與空間定位相結合，揭示細胞在組織中的實際分布和功能提供了極其重要的視角。透過本課程，不僅學習到了各種空間組學技術，如何運用這些技術來探究疾病機制、發育生物學的過程以及組織之間的相互作用，這些知識對於我未來的研究將非常有用。尤其是課程中對於實際應用的重點介紹，使我對如何在實際研究中應用這些技術有了初步的掌握。課程中也針對計算方法的作深入分析，可惜這部分內容需要具備程式語言背景的能力，因為沒有工程背景，這部分聽起來非常吃力，就算有課後針對程式語言再另外找學習資料仍然無功而返，只能初步了解如何影像處理。課程中收穫最多的是了解空間組學技術如何幫助科學家們在如腫瘤微環境和免疫細胞分佈等複雜生物系統中，找到治療突破口。這不僅擴展了我的學術視野，也為我的未來研究方向提供了靈感。

CODEX 染色技術，由 Akoya 公司商業化銷售後，其實驗成本一直是科研預算中的一大負擔。此技術的高成本主要源自於必須使用昂貴的商業合成抗體。一項分析顯示，單一抗體的

單次染色成本高達 25 至 30 美元。Dr. John Hickey 掌握抗體合成技術，自己在實驗室合成抗體，大副縮減實驗成本至單一抗體單次染色為\$3 美金。因此進修中期，我開始學習抗體合成方法，包括抗體合成的具體步驟、疑難問題的排解以及如何調整實驗步驟和試劑比例。這一過程不僅提升了我的技術能力，也增強了我解決實際問題的能力。

進修後期，抗體合成後，進行合成抗體在組織染色的應用測試。這一階段，學習如何選用特殊玻片、組織處理步驟、抗原提取(antigen retrieval)原理，專注於如何將這些自製抗體應用於實際的組織樣本。由於 9 個月的時間非常短促，無法完成所有抗體合成，進修後期，使用實驗室現有庫存抗體，對 40 至 50 種不同的抗原進行了染色，並使用 CODEX 技術進行多週期的影像採集。這不僅為我提供了實際操作高端生物技術的機會，也讓我對腫瘤組織的微結構有了更深入的理解。

心得：

這九個月的進修經驗極大地豐富了我的學術視野和專業技能。空間組學的學習讓我認識到單細胞分析技術的強大潛力，尤其是在理解複雜疾病環境和發展新的治療策略方面。學習如何使用程式語言進行數據分析最初非常具有挑戰性，但這增強了我解決問題的能力，也為我未來的研究工作奠定了堅實的基礎。

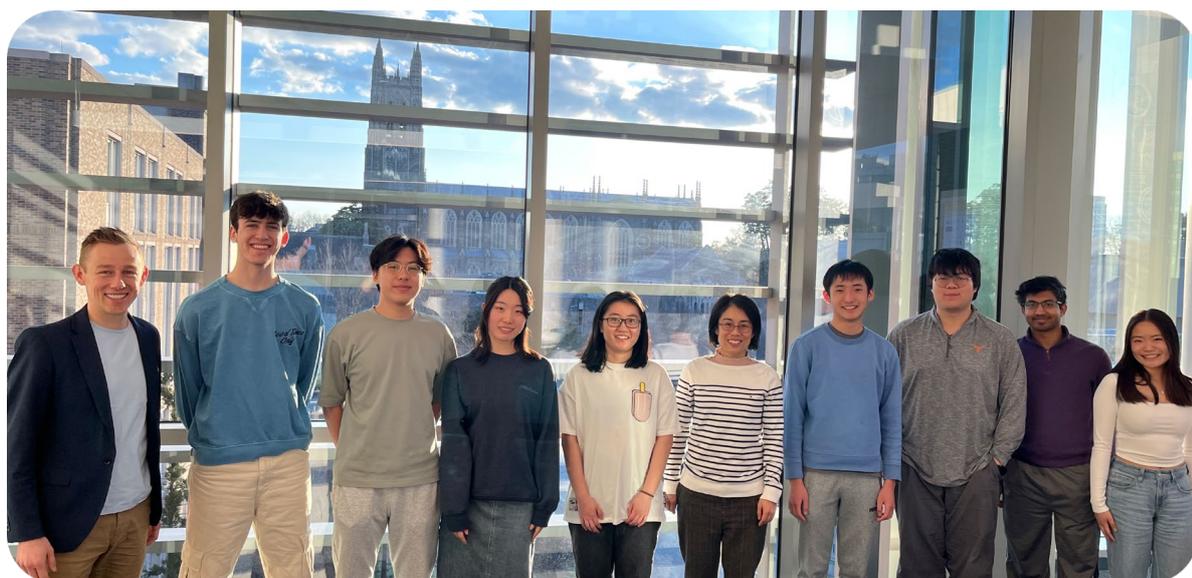
另一方面，掌握在實驗室合成抗體的技能，大幅降低了實驗成本，這不僅提升了實驗的可行性，也使我能在資源有限的情況下進行高質量的科學研究。實際應用自製抗體於 CODEX 染色技術中，讓我深入理解了腫瘤微結構和免疫細胞分佈的重要性，這對於未來致力於癌症研究的我說，是一個重大的學術進展。

總結來說，這次的學習經驗不僅提升了我的技術能力，更讓我對於生物醫學領域的未來發展和我個人職業生涯的方向有了更清晰的認識。藉由出國的訓練期間專心撰寫計畫，也在今年順利取得科技部三年期計畫，雖然 9 個月的進修時間無法窺得全貌，但建立連結後，未來將持續保持合作。

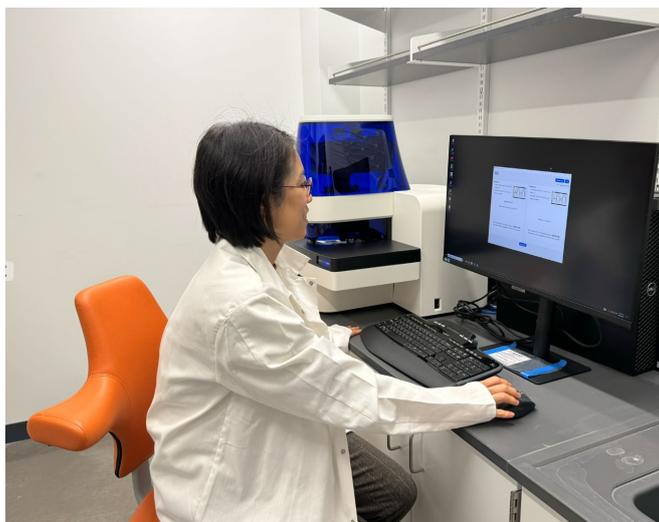
建議事項：

在杜克大學的進修研究有非常大的收穫，但是國防部經費補助有限，實在不夠基本的生活開銷。在「中央政府各機關派赴國外各地區出差人員生活費日支數額修正對照表」可能需要重新更新杜克大學的生活費，除了國防部生活補助，很感謝醫院提供進修人員基本薪資，相信可以鼓勵更多的優秀醫院同仁出國進修。但疫情之後通貨膨脹非常嚴重，對於稍微已經有背負貸款的人，進修生活花費仍然是不小的經濟重擔，應多鼓勵年輕醫師還沒有太大經濟重擔之前盡快出國增廣見聞，等到中生代累積一定量的病人跟現金流需求之後，再次出國變得非常困難。

照片：



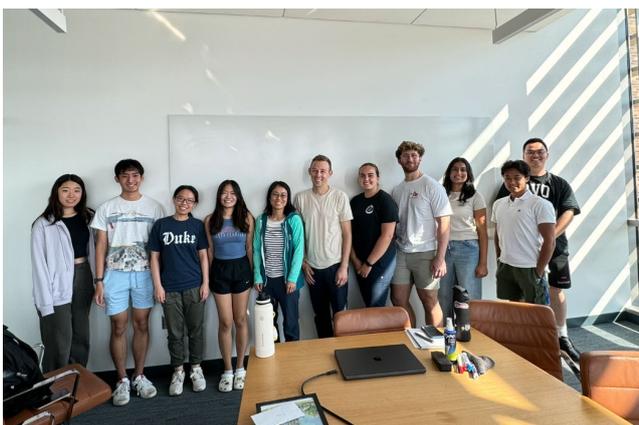
進修初期實驗室成員，實驗室位置在杜克大學工程學院，會議室背景就是杜克大學最著名的教堂地標。



操作索引協同檢測染色法(CODEX)機器。

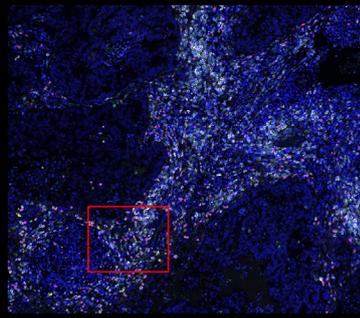


實驗室歡送聚會。

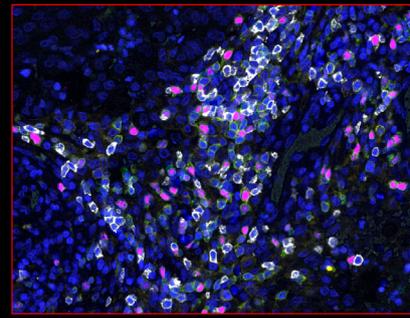


新學期實驗室新血加入，總結報告與 Dr. John Hickey 合影。

EC27_Endometrioid carcinoma of endometrium, grade 3, dMMR(+) with MLH1 loss, LVSI(-), 2018 FIGO stage IIIB, 2021 AJCC pT3bN0Mb



200µm



50µm

DAPI CD3 CD4 CD8 FOXP3

HICKEY LAB

Duke

使用索引協同檢測染色法初步染色子宮內膜癌結果_未發表。