

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 10 月 22 日 (22.10.2015)



WIPO | PCT



(10) 国际公布号
WO 2015/157970 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 33/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/075613
- (22) 国际申请日: 2014 年 4 月 17 日 (17.04.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (71) 申请人: 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司 (SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。北京深迈瑞医疗电子技术研究院有限公司 (BEIJING SHEN MINDRAY MEDICAL ELECTRONICS TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市海淀区上地信息产业基地创业路 8 号群英科技园 5 号楼三层, Beijing 100085 (CN)。
- (72) 发明人: 徐燕 (XU, Yan); 中国北京市海淀区上地信息产业基地创业路 8 号群英科技园 5 号楼三层, Beijing 100085 (CN)。钱程 (QIAN, Cheng); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。李鑫 (LI, Xin); 中国北京市海淀区上地信息产业基地创业路 8 号群英科技园 5 号楼三层, Beijing 100058 (CN)。谢俊斌 (XIE, Junbin); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。
- (74) 代理人: 深圳鼎合诚知识产权代理有限公司 (DHC IP ATTORNEYS); 中国广东省深圳市福田区金田路与福华路交汇处现代商务大厦 2201, Guangdong 518048 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,

[见续页]

(54) Title: FLOW CYTOMETER AND MULTIDIMENSIONAL DATA CLASSIFICATION METHOD AND APPARATUS THEREOF

(54) 发明名称: 一种流式细胞分析仪及其多维数据分类方法、装置

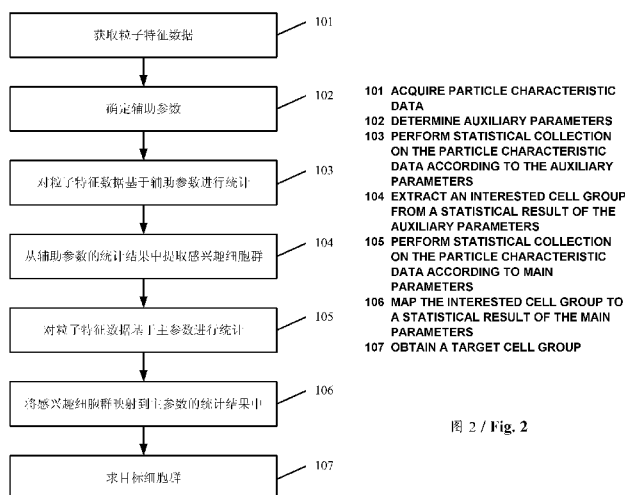


图 2 / Fig. 2

(57) Abstract: According to a flow cytometer and a multidimensional data automatic classification method and apparatus thereof provided in the present application, auxiliary parameters and main parameters of a target cell group of each detection item are selected; statistical collection is first performed on particle characteristic data of cells according to the auxiliary parameters to obtain an interested cell group; statistical collection is then performed on the particle characteristic data according to the main parameters; afterwards, the interested cell group is mapped to a statistical result obtained in the statistical collection performed according to the main parameters; and finally, the target cell group is obtained according to position distribution and an edge of the interested cell group as well as main parameters gate setting. In this manner, the accuracy of the target cell group obtained by means of gate setting can be improved, and further, the accuracy of cell analysis is improved.

(57) 摘要: 本申请提供的流式分析仪及其多维数据自动分类方法、装置, 选定每个检测项目的目标细胞群的辅助参数和主参数, 先对细胞的粒子特征数据基于辅助参数进行统计, 得到感兴趣细胞群, 再对粒子特征数据基于主参数进行统计, 然后将感兴趣细胞群映射到基于主参数进行统计的统计结果中, 最后利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘, 结合主参数设门, 得到目标细胞群。从而可以提升设门所得的目标细胞群的准确性, 进而提升细胞分析的准确性。



WO 2015/157970 A1



JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

一种流式细胞分析仪及其多维数据分类方法、装置

技术领域

本申请涉及细胞分析领域，具体涉及一种流式细胞分析仪及其多维数据自动分类方法、装置。

背景技术

流式细胞分析仪通过接收激光照射后液流内细胞的各种光信号对细胞进行分类分析和识别，流式光信号通常包括前散射光（FSC）、侧散射光（SSC）、各种荧光（FL1、FL2、...），这些信号构成了流式数据的不同参数，或者称为通道，或者称为维度。这些光信号可反映细胞或者微球的物理化学特征，如大小，颗粒度和标记的荧光素情况等。

流式细胞分析仪收集各通道的光信号，利用设门技术分析细胞，设门需要在某些维度中指定某一范围的目标细胞群，对其进行分析。手动设门是根据人的主观判断，不同的人做出的结果具有一定的差异，难以达到结果的一致性。计算机技术为流式细胞术的数据分析提供了便利，对于许多临床上的流式检测项目，商业厂商提供了自动设门的功能，该功能的重要优势在于不仅可以降低人的工作量，而且可以减少人工手动设门的主观判断过程引起的误差，提高分析结果的一致性。自动设门的另一个优势是可以同时分析多个参数，从而获得更多信息，有效提升设门的准确性。

但无论是自动设门还是手动设门来说，一个共同的难点是：对于细胞群分布相互重叠或不易确定目的细胞群的情况，难以得到准确的判断。例如，在划分一定范围的细胞群时，如果在划分的细胞群内存在大量干扰细胞，或者干扰细胞距离目标细胞群较近，都会干扰到设门。另一方面，由于电压或补偿等仪器设置的改变，或者试剂中抗体浓度发生变化，或者由于血液样本的异常，或者由于样本制备操作中的失误，散点图中各群细胞的位置都可能偏离预期位置。

发明内容

依据本申请的第一方面，本申请提供一种流式多维数据自动分类方法，包括：获取用于表征细胞粒子的粒子特征数据，所述粒子特征数据为通过流式细胞分析仪的多个通道收集的数据集合；根据检测项目确定至少一个辅助参数，所述每个辅助参数为粒子特征数据中的一维；对粒子特征数据基于辅助参数进行统计；从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群；对粒子特征数据基于主参数进行统计，所述主参数为最终通

过设门的方式在基于该参数的统计结果中圈出目标细胞群的参数，其为粒子特征数据中不同于辅助参数的维度；将提取的感兴趣细胞群映射到主参数的统计结果中；利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘，并结合主参数设门，求出目标细胞群。

依据本申请的第二方面，本申请提供一种流式多维数据自动分类装置，包括：数据获取单元，用于获取用于表征细胞粒子的粒子特征数据，所述粒子特征数据为通过流式细胞分析仪的多个通道收集的数据集合；辅助参数确定单元，用于根据检测项目确定至少一个辅助参数，所述每个辅助参数为粒子特征数据中的一维；辅助参数统计单元，用于对粒子特征数据基于辅助参数进行统计；第一提取单元，用于从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群；主参数统计单元，用于对粒子特征数据基于主参数进行统计，所述主参数为最终通过设门的方式在基于该参数的统计结果中圈出目标细胞群的参数，其为粒子特征数据中不同于辅助参数的维度；映射单元，用于将提取的感兴趣细胞群映射到主参数的统计结果中；第二提取单元，用于利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘，并结合主参数设门，求出目标细胞群。

依据本申请的第三方面，本申请提供一种流式细胞分析仪，包括：光学检测设备，用于对被测样本进行光照射，收集粒子因光照射所产生的光信息，并输出与粒子光信息对应的粒子特征数据；数据处理装置，用于接收粒子特征数据，对粒子特征数据进行处理，所述处理设备包括上述的流式多维数据自动分类装置。

附图说明

- 图 1 是流式细胞分析仪的原理示意图；
- 图 2 是对粒子的特征数据进行处理的一种流程图；
- 图 3 是提取感兴趣细胞群的流程图；
- 图 4 是利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘求出目标细胞群的流程图；
- 图 5 是一种流式多维数据自动分类装置的结构示意图；
- 图 6a-图 6k 是一种多维数据分类方法的各处理结果图；
- 图 7 是一种提取感兴趣细胞群的处理结果图；
- 图 8 是一种提取感兴趣细胞群的处理结果图；
- 图 9a 是一种提取感兴趣细胞群的处理结果图；
- 图 9b 是一种基于多维数据自动分类方法的设门的处理结果图。

具体实施方式

本申请实施例提供了一种流式细胞分析仪，请参考图 1，为流式细

胞分析仪的原理示意图，流式细胞分析仪包括光学检测设备 20、输送设备 30 和数据处理装置 40。

输送设备 30 用于将样本液输送到光学检测设备 20 中。输送设备 30 通常包括输送管路和控制阀，样本液通过输送管路和控制阀输送到光学检测设备 20 中。

光学检测设备 20 用于对流经其检测区域的样本液进行光照射，通过多个通道收集细胞（细胞是非常小的颗粒，因此细胞也称为粒子）因光照射所产生的各种光信息（例如散射光信息和/或荧光信息），并转换成对应的电信号，这些信息与粒子的特征对应，成为粒子特征数据，即每个细胞粒子由多个维度的参数组成的集合表征，该数据的集合可表示成一个数组，例如粒子 A 由数组 $A(A_1, A_2, \dots, A_i)$ 表征。具体地，光学检测设备 20 可包括光源 1025、作为检测区域的流动室 1022、设置在光轴上和/或光轴侧边的光收集装置 1023 和光电感应器 1024。样本液在鞘液的裹挟下通过提供检测区域的流动室 1022，光源 1025 发射的光束照射到检测区域 1021，样本液中的各细胞粒子经光束照射后发出散射光（或者散射光和荧光），光收集装置 1023 对散射光（或者散射光和荧光）进行收集整形，经收集整形后的光照射到光电感应器 1024，光电感应器 1024 将光信号转换成对应的电信号输出。

数据处理装置 40 用于对接收的粒子的特征数据进行分析处理。

请参考图 2，图 2 为对粒子的特征数据进行处理的一种流程图，包括以下步骤：

步骤 101、获取粒子特征数据。

其中，粒子特征数据用于表征细胞粒子。粒子特征数据为通过流式细胞分析仪的多个通道收集的数据集合。

步骤 102、确定辅助参数。

辅助参数是相对主参数定义的，主参数是指最终用设门的方法圈出目标细胞群的参数，主参数通常根据检测项目确定，即对粒子特征数据基于选择的参数进行统计，例如生成直方图或散点图，在统计结果中通过设门的方法确定出目标细胞群，该参数成为该目标细胞群的主参数。辅助参数是指能够帮助主参数定位目标细胞群或者区分干扰细胞群的参数。辅助参数可根据该检测项目所采用的抗体和经验选择，例如，可预先确定检测项目与辅助参数的对照表，一个优选的实施例中，在确定辅助参数时，可以根据检测项目，通过查表获得。

为突出辅助参数的作用，选择目标细胞或干扰细胞有特异性表达的

参数作为辅助参数，例如目标细胞或干扰细胞在该参数项的参数值与其它细胞在该参数项的参数值有明显区别或具有明显的特点。

每个主参数是粒子特征数据中的一维，每个辅助参数是粒子特征数据中不同于主参数的一维。

辅助参数可以是一个，也可以是多个，具体可以根据检测项目确定辅助参数。

步骤 103、对粒子特征数据基于辅助参数进行统计。

一个实施例中，对粒子特征数据基于辅助参数进行统计可以基于单个辅助参数进行统计，例如，辅助参数为 $A_1, A_2, \dots, A_i$ 中第 n 维数据，则对所有细胞粒子第 n 维数据 $A(A_n)$ 进行统计，形成一维的统计图，例如直方图。在另一个实施例中，对粒子特征数据基于辅助参数进行统计可以基于辅助参数和其它参数的联合进行统计，或者，基于多个辅助参数的联合进行统计。例如对第 n 维数据和联合使用的第 1 维数据进行统计，则所有细胞粒子第 1 维和第 n 维数据 $A(A_1, A_n)$ 进行统计，形成二维的统计图，例如散点图。

步骤 104、从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群。

其中，可以根据检测项目和目标细胞群或干扰细胞群在该辅助参数上的特异性从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群。感兴趣细胞群用于辅助定位目标细胞群的位置和边缘，感兴趣细胞群可以是最终的目标细胞群或其一部分，也可以是干扰细胞。由于在选择辅助参数时已经考虑到感兴趣细胞群在辅助参数上的特异性，因此可以先在辅助参数的统计结果中划分出细胞群落，然后根据检测项目和感兴趣细胞群在辅助参数上的分布特点将符合该特异性的细胞群确定为感兴趣细胞群，例如，将辅助参数值最大、最小或处于设定范围内的细胞群落确定为感兴趣细胞群。

一个优选的实施例中，提取感兴趣细胞群的流程如图 3 所示，包括以下步骤：步骤 1041，对粒子特征数据基于辅助参数的统计图进行阈值处理，阈值处理的作用是去除图像中灰度值小于阈值的点，以便去除干扰，还可通过阈值处理后将图像变为二值图，以方便后续处理。

步骤 1042，对阈值处理后的图像进行联通区域标记，将标记为一个联通区域的细胞作为一个细胞群落。

步骤 1043，求出各联通区域的中心，将该联通区域的中心处的辅助参数值作为该细胞群落的辅助参数值。

步骤 1044，确定感兴趣细胞群。根据感兴趣细胞群在辅助参数上的分布特点和各细胞群落的辅助参数值，将符合特异性表达的细胞群落确定为感兴趣细胞群。

步骤 105、对粒子特征数据基于主参数进行统计。

同样，在对所有细胞粒子基于主参数进行统计时，可以基于单个主参数进行统计，形成直方图，也可以基于主参数和其它参数的联合进行统计，形成二维或更多维的散点图。

步骤 106、将感兴趣细胞群映射到主参数的统计结果中。在主参数的统计结果中，将属于感兴趣细胞群的细胞粒子标记出来。当有多个感兴趣细胞群时，将每个感兴趣细胞群一一映射到主参数的统计结果中。

步骤 107、求目标细胞群。利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘，并结合主参数设门，求出目标细胞群。

可采用分水岭算法、聚类算法、等高线法和/或梯度法找到目标细胞群和其它细胞的边界，从而通过设门的方法得到目标细胞群。一个优选的实施例中，如图 4 所示，主参数的统计结果为散点图，感兴趣细胞群属于目标细胞群中的一部分，利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘求出目标细胞群包括以下步骤：

1071、将感兴趣细胞群的分布区域作为前景。

1072、将前景外围设定区域以外的区域作为背景。

1073、对前景和背景进行区域分割，找到前景和背景之间的边界，将边界以内的部分作为目标细胞群分布区域。其中，对前景和背景进行区域分割的方法包括分水岭算法、active contour 算法或 random walk 算法。

一个优选的实施例中，在找到前景和背景之间的边界后还可以包括：对边界进行多边形近似处理，得到多边形门，将门内的细胞作为目标细胞群。

本实施例中，上述步骤 105 也可以先于辅助参数进行统计或与辅助参数同步进行。

本申请实施例中，选定每个检测项目的目标细胞群的辅助参数和主参数，分别将细胞的粒子特征数据基于辅助参数和主参数进行统计，从辅助参数的统计结果中得到感兴趣细胞群，然后将感兴趣细胞群映射到基于主参数的统计结果中，最后利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘，结合主参数设门，得到目标细胞群。

根据选择的辅助参数和感兴趣细胞群，一种情况是：感兴趣细胞群属于目标细胞群中的一部分，感兴趣细胞群在主参数统计结果中的分布情况对目标细胞群的定位和边缘确定具有参考价值，如上述实施例，可根据感兴趣细胞群的分布位置和边缘确定目标细胞群的分布位置和边缘。另一种情况是：感兴趣细胞群是对目标细胞群造成干扰的细胞，这种情况下，当在主参数统计结果中利用设门的方式求出候选目标细胞群后，根据感兴趣细胞群在主参数统计结果中的分布情况，从候选目标细胞群中剔除感兴趣细胞群即可得到目标细胞群。

本申请实施例一方面利用多维参数进行细胞分析，充分发挥了计算机在多参数分析上的优势。另一方面，本申请实施例充分注意到了检测项目中各参数的实际临床意义，利用各参数对应的荧光标记添加的目的和功能，突破细胞从大群（例如淋巴细胞）到亚群（例如淋巴亚群）的分析方式，而采用先识别出大群中的亚群或干扰细胞，再由亚群或干扰细胞来辅助确定大群的分析方式，从而采用反向设门的思路辅助确定出目标细胞群的位置和分布边缘，更准确确定出目标细胞群的位置，并将干扰细胞与目标细胞群区分开来，提高细胞分类的准确性，尤其对细胞群分布相互重叠或不易确定目的细胞群的情况下效果更明显。

基于上述方法，数据处理装置 40 包括一种流式多维数据自动分类装置，如图 5 所示，该装置可以包括：数据获取单元 420、辅助参数确定单元 421、辅助参数统计单元 422、第一提取单元 423、主参数统计单元 424、映射单元 425 和第二提取单元 426。

数据获取单元 420 用于获取用于表征细胞粒子的粒子特征数据，所述粒子特征数据为通过流式细胞分析仪的多个通道收集的数据集合。辅助参数确定单元 421 用于根据检测项目确定至少一个辅助参数，所述每个辅助参数为粒子特征数据中的一维。辅助参数统计单元 422 用于对粒子特征数据基于辅助参数进行统计。第一提取单元 423 用于从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群。主参数统计单元 424 用于对粒子特征数据基于主参数进行统计，所述主参数为最终通过设门的方式在基于该参数的统计结果中圈出目标细胞群的参数，其为粒子特征数据中不同于辅助参数的一维。映射单元 425 用于将提取的感兴趣细胞群映射到主参数的统计结果中。第二提取单元 426 用于利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘，并结合主参数设门，求出目标细胞群。

对粒子特征数据基于辅助参数进行统计包括以下任一种：

基于单个辅助参数进行统计。

基于辅助参数和其它参数的联合进行统计。

基于多个辅助参数的联合进行统计。

一个优选的实施例中，辅助参数确定单元 421 在确定辅助参数时根据检测项目通过查表获得。

一个优选的实施例中，第一提取单元 423 根据检测项目和目标细胞群或干扰细胞群在该辅助参数上的特点从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群。

一个优选的实施例中，第一提取单元 423 包括：细胞群落划分子单元 4230 和感兴趣细胞群确定子单元 4231。

细胞群落划分子单元 4230 用于在辅助参数的统计结果中划分细胞群落。一个优选的实施例中，细胞群落划分子单元 4230 用于对粒子特征

数据基于辅助参数的统计图进行阈值处理，对阈值处理后的图像进行联通区域标记，将标记为一个联通区域的细胞作为一个细胞群落。细胞群落划分子单元 4230 还用于求出各联通区域的中心，将该联通区域的中心处的辅助参数值作为该细胞群落的辅助参数值。感兴趣细胞群确定子单元 4231 用于将辅助参数值最大、最小或处于设定范围内的细胞群落确定为感兴趣细胞群。

一个优选的实施例中，感兴趣细胞群属于目标细胞群中的一部分，主参数的统计结果为散点图，第二提取单元 426 在利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘求出目标细胞群时将感兴趣细胞群的分布区域作为前景，将散点图中距前景中设定区域的以外的区域作为背景，对前景和背景进行区域分割，找到前景和背景之间的边界，将边界以内的部分作为目标细胞群分别区域。在进一步优选的实施例中，第二提取单元 426 在找到前景和背景之间的边界后还对边界进行多边形近似处理，得到多边形门，将门内的细胞作为目标细胞群。

下面以外周血淋巴细胞亚群检测项目中通过设门圈出淋巴细胞为例进一步说明。

淋巴细胞亚群是检测机体免疫功能的重要指标，临床主要用于免疫系统疾病及免疫相关疾病的诊断和临床治疗。用于淋巴细胞亚群检测的常见单标抗体包括 CD45、CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD56，因此淋巴细胞亚群检测项目中，检测的数据通常包括前散射光、侧散射光和 CD45、CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD56 多个荧光通道的数据。CD45 表达于所有白细胞；CD3 表达于 T 淋巴细胞；CD4 表达于 T 辅助/诱导淋巴细胞（CD4+T 细胞）和单核细胞；CD8 表达于细胞毒 T 细胞（CD8+T 细胞）和 NK 细胞；CD19 表达于 B 淋巴细胞；CD16 表达于 NK 细胞、单核巨噬细胞、粒细胞和树突状细胞等；CD56 表达于 NK 细胞和细胞毒 T 细胞。

通常采用 CD45 作为设门抗体，先识别出淋巴细胞，然后在淋巴细胞的基础上，利用 CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD56 在各淋巴细胞亚群的特异性表达，对淋巴细胞进行分类。

淋巴细胞检测的设门主参数为 SSC、CD45，图 6a 为 SSC/CD45 散点图，多边形为设门，多边形圈出的部分为淋巴细胞。但当异常的淋巴、幼稚细胞、有核红细胞、嗜碱粒细胞以及单核细胞大量存在或者距离淋巴细胞群较近时，都可能干扰到淋巴设门，或者由于电压、补偿等仪器设置的改变，或者试剂中抗体浓度发生变化，或者由于血液样本的异常，或者由于样本制备操作中的失误，散点图中各群细胞的位置可能偏离预期位置。此时仅依靠设门主参数 SSC、CD45 确定的淋巴细胞可能不准确，从而使得在此淋巴细胞基础上进行的淋巴细胞亚群分析结果

也不准确。在这种情况下,本申请注意到 CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD56 等抗体对识别淋巴细胞的参考意义,但它们不是特异性标记淋巴细胞的,所以不能够直接利用这些抗体对淋巴进行聚类分析。因此,本申请实施例中根据被标记细胞的荧光参数的特点,在其他更易识别的荧光参数下截取细胞群,然后根据截取的细胞群,在设门目标散点图上找到该细胞群,做进一步分析。具体包括以下步骤:

S1、确定辅助参数。

辅助设门参数可以较好地分离目标细胞群和干扰细胞群。本例中 CD3 和 CD19 具有这种特征,它们在各自的荧光中都是强阳性,和相邻细胞分离较远,所以可选 CD3 和 CD19 为辅助参数。CD3 表达于 T 淋巴细胞,CD19 表达于 B 淋巴细胞。

S2、对粒子特征数据基于辅助参数进行统计并提取感兴趣细胞群。

图 6b 和图 6c 是基于辅助参数和其它参数联合进行统计的统计结果图。图 6b 为 CD3 联合 SSC 的统计结果图,图 6c 是 CD19 联合 SSC 的统计结果图。

如图 6b 所示,图中标注为 R1 的区域是 T 淋巴细胞亚群,即为感兴趣细胞群。如图 6c 所示,图中标注为 R2 的区域是 B 淋巴细胞亚群即为感兴趣细胞群。

图 6b 的 SSC/CD3 散点图中自动提取 R1 的方法如下:

1)平滑 SSC/CD3 散点图,平滑方法可以是高斯平滑,均值滤波,中值滤波等线性或者非线性的平滑滤波器。

2)对散点图进行阈值处理,得到图 6d。阈值处理的作用是去除图像中灰度值小于阈值的点。设原图为 $I(x,y)$, (x,y) 表示像素点的坐标,处理后的图像为 $I_{thresh}(x,y)$,

$$I_{thresh}(x,y) = \begin{cases} I(x,y), & \text{if } I(x,y) > threshold \\ 0, & \text{else} \end{cases}$$

其中,

3)对阈值处理后的图像进行联通区域标记。

对图 6d 进行联通区域标记,求出个联通区域的中心,如图 6e 中“*”所标位置。

本例使用的是 blob 分析的方法,提取联通区域的中心,相当于提取位置信息,类似的还可以利用各联通区域的大小、形状、方向、数量等信息进行检测。

4)比较各联通区域的中心位置,选取中心在 CD3 方向最大的一个区域,如图 6f 中区域 R1,即所提取的第一个感兴趣细胞群 R1。

5) 对于处理 SSC/CD19 也使用同样的方法, 即可得到第二个感兴趣辅助细胞群, 即图 6c 中的 R2 标出的区域。

6) 对粒子特征数据基于主参数进行统计并将感兴趣细胞群映射到基于主参数进行统计的统计结果中。

本例中检测外周血淋巴细胞亚群, 利用 SSC 和 CD45 作为主参数。将提取的感兴趣细胞群 R1 和 R2 分别映射到基于主参数 SSC 和 CD45 统计的统计结果图中, 如图 6g 和图 6h 所示。

本例中感兴趣细胞群只是淋巴细胞中的一部分, 但是将感兴趣细胞群映射到 SSC/CD45 散点图中, 可以指示淋巴细胞的分布位置和边缘。

7) 利用辅助细胞群, 结合主设门参数, 求出目标细胞群。

本例中使用分水岭算法, 在 SSC/CD45 散点图中, 感兴趣细胞群是一个已经确定的区域, 将这些感兴趣细胞群的分布区域内部标记为前景, 如图 6i。将图 6i 中距内部标记的区域的外接矩形距离大于 r 位置的标记为背景, 其中 r 为预设的值, 本领域技术人员可以理解, 并不一定是外接矩形, 还可以是其它形状的几何图形。如图 6j 中横线纹理区域, 使用分水岭算法可以找到前景和背景之间的边界, 将边界以内的部分作为目标细胞群分布区域, 如图 6j 中曲线包围的区域 R3, 即为目标细胞群的区域。

本例中使用分水岭算法对前景和背景进行区域分割, 在另一种实施方式中, 还可以使用 active contour 算法或 random walk 算法对前景和背景进行区域分割。

本例中, 可以对 6j 的区域 R3 进行多边形近似处理, 即可得到多边形门, 即 6k 中的多边形门 (图中圈出部分)。

上述实施例详细说明了辅助参数与其他参数联合使用的情况, 如上述实施例中使用了 SSC; 本领域技术人员应当理解, 辅助参数也可以单独使用, 如分别处理 CD3 和 CD19 的直方图, 如图 7 所示, I1 为提取的感兴趣细胞群。也可以分别处理各辅助参数, 上述实施例中分别处理了 SSC/CD3、SSC/CD19 散点图, 或者联合处理辅助参数, 如处理 CD3/CD19 散点图, 如图 8 所示, 图中 R1、R2 圈出的细胞群为提取的感兴趣细胞群。

这种利用多维数据进行自动分类的实例包括淋巴亚群的 2 色、3 色、4 色、6 色抗体组合方案的应用。

在 2 色抗体组合方案进行淋巴亚群分析方案中, 淋巴门是在 FSC/SSC 散点图上设的, FSC、SSC 是设门主参数, 淋巴细胞群和周围的其他细胞群位置靠近或者有重叠, 为了使淋巴门更可靠, 可以利用 CD14 和 CD45 作为辅助参数, 辅助设门, 淋巴细胞 CD45 呈强阳性, CD14 呈阴性, 如图 9a 所示, 将散点图中左上部分的区域, 即 R1 圈出

的区域确定为感兴趣的辅助细胞群，将感兴趣的辅助细胞群映射到 SSC/FSC 散点图上，并进行标记，例如采用不同颜色进行标记，根据该标记的散点的分布，可以进一步在 SSC/FSC 自动设门，如图 9b 中的 P1 门。

白血病免疫表型分析中，需要在 CD45/SSC 散点图上对有核细胞进行分类，此时，主设门参数是 SSC、CD45，比如急性 B 淋巴细胞白血病患者的幼稚细胞经常出现在有核红细胞的位置，CD19、CD34、CD10 可作为辅助设门参数，提取 CD19、CD34、CD10 三个参数均为阳性的细胞，映射到 CD45/SSC 散点图上，可用以确定幼稚细胞的位置，再使用相应的算法圈出幼稚细胞群。

对于多发性骨髓瘤患者，正常骨髓标本中，需要在 CD45/SSC 散点图对浆细胞进行设门，浆细胞可能和有核红细胞或者幼稚细胞的位置比较近或者有重叠，可用 CD38（或 CD138）作为辅助参数，CD38（或 CD138）强表达的细胞为浆细胞，将此类浆细胞映射到 CD45/SSC 散点图上，再使用相应的算法圈出浆细胞群，浆细胞群内包含表达 CD38（或 CD138）的浆细胞和不表达 CD38（或 CD138）的浆细胞。

辅助参数不仅可以用于标出目标细胞，也可以用于排除干扰细胞。这种情况下在辅助参数的统计结果中提取出的感兴趣辅助细胞群必定不在目标细胞群中，通过其他的方法在主设门参数中找到目标细胞群，同样也将感兴趣辅助细胞群映射到主参数的统计结果中，可使用辅助细胞群验证找的对不对，然后做出处理，比如在目标细胞群中减去要排除的细胞，或者输出提示信息请用户审核结果。

本领域技术人员可以理解，上述实施方式中各种方法的全部或部分步骤可以通过程序来指令相关硬件完成，该程序可以存储于一计算机可读存储介质中，存储介质可以包括：只读存储器、随机存储器、磁盘或光盘等。

以上应用了具体个例对本申请进行阐述，只是用于帮助理解本申请并不用以限制本申请。对于本领域的一般技术人员，依据本申请的思想，可以对上述具体实施方式进行变化。

权 利 要 求

1. 一种流式多维数据自动分类方法，其特征在于，包括：
获取用于表征细胞粒子的粒子特征数据，所述粒子特征数据为通过流式细胞分析仪的多个通道收集的数据集合；
根据检测项目确定至少一个辅助参数，所述每个辅助参数为粒子特征数据中的一维；
对粒子特征数据基于辅助参数进行统计；
从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群；
对粒子特征数据基于主参数进行统计，所述主参数为最终通过设门的方式在基于该参数的统计结果中圈出目标细胞群的参数，其为粒子特征数据中不同于辅助参数的维度；
将提取的感兴趣细胞群映射到主参数的统计结果中；
利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘，并结合主参数设门，求出目标细胞群。
2. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于：对粒子特征数据基于辅助参数进行统计包括以下任一种：
基于单个辅助参数进行统计；
基于辅助参数和其它参数的联合进行统计；
基于多个辅助参数的联合进行统计。
3. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于确定辅助参数时根据检测项目通过查表获得。
4. 如权利要求 1-3 中任一项所述的方法，其特征在于，根据检测项目和目标细胞群或干扰细胞群在该辅助参数上的特异性从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群。
5. 如权利要求 4 所述的方法，其特征在于，从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群包括：
在辅助参数的统计结果中划分细胞群落；
将辅助参数值最大、最小或处于设定范围内的细胞群落确定为感兴趣细胞群。
6. 如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，在辅助参数的统计结果中划分细胞群落包括：
对粒子特征数据基于辅助参数的统计图进行阈值处理；
对阈值处理后的图像进行联通区域标记；
将标记为一个联通区域的细胞作为一个细胞群落。
7. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于还包括：
求出各联通区域的中心；
将该联通区域的中心处的辅助参数值作为该细胞群落的辅助参数

值。

8.如权利要求 1-7 中任一项所述的方法,其特征在于:所述主参数的统计结果为散点图,利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘求出目标细胞群包括:

将感兴趣细胞群的分布区域作为前景;

将散点图中距前景设定区域以外的区域作为背景;

对前景和背景进行区域分割,找到前景和背景之间的边界,将边界以内的部分作为目标细胞群分布区域。

9.如权利要求 8 所述的方法,其特征在于,对前景和背景进行区域分割的方法包括分水岭算法、active contour 算法或 random walk 算法。

10. 如权利要求 8 所述的方法,其特征在于,找到前景和背景之间的边界后还包括:对边界进行多边形近似处理,得到多边形门,将门内的细胞作为目标细胞群。

11. 如权利要求 1-7 中任一项所述的方法,其特征在于:利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘求出目标细胞群的算法包括:聚类算法、等高线法和/或梯度法。

12.一种流式多维数据自动分类装置,其特征在于,包括:

数据获取单元,用于获取用于表征细胞粒子的粒子特征数据,所述粒子特征数据为通过流式细胞分析仪的多个通道收集的数据集合;

辅助参数确定单元,用于根据检测项目确定至少一个辅助参数,所述每个辅助参数为粒子特征数据中的一维;

辅助参数统计单元,用于对粒子特征数据基于辅助参数进行统计;

第一提取单元,用于从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群;

主参数统计单元,用于对粒子特征数据基于主参数进行统计,所述主参数为最终通过设门的方式在基于该参数的统计结果中圈出目标细胞群的参数,其为粒子特征数据中不同于辅助参数的维度;

映射单元,用于将提取的感兴趣细胞群映射到主参数的统计结果中;

第二提取单元,用于利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘,并结合主参数设门,求出目标细胞群。

13. 如权利要求 12 所述的装置,其特征在于:对粒子特征数据基于辅助参数进行统计包括以下任一种:

基于单个辅助参数进行统计;

基于辅助参数和其它参数的联合进行统计;

基于多个辅助参数的联合进行统计。

14. 如权利要求 12 所述的装置,其特征在于辅助参数确定单元在确定辅助参数时根据检测项目通过查表获得。

15. 如权利要求 12-14 中任一项所述的装置,其特征在于,第一提

取单元根据检测项目和目标细胞群或干扰细胞群在该辅助参数上的特异性从辅助参数的统计结果中提取感兴趣细胞群。

16. 如权利要求 15 所述的装置,其特征不在于,第一提取单元包括:细胞群落划分子单元,用于在辅助参数的统计结果中划分细胞群落;感兴趣细胞群确定子单元,用于将辅助参数值最大、最小或处于设定范围内的细胞群落确定为感兴趣细胞群。

17. 如权利要求 16 所述的装置,其特征不在于,细胞群落划分子单元用于对粒子特征数据基于辅助参数的统计图进行阈值处理,对阈值处理后的图像进行联通区域标记,将标记为一个联通区域的细胞作为一个细胞群落。

18. 如权利要求 17 所述的装置,其特征不在于细胞群落划分子单元还用于求出各联通区域的中心,将该联通区域的中心处的辅助参数值作为该细胞群落的辅助参数值。

19. 如权利要求 12-18 中任一项所述的装置,其特征不在于:所述主参数的统计结果为散点图,第二提取单元在利用感兴趣细胞群的分布位置和边缘求出目标细胞群时将感兴趣细胞群的分布区域作为前景,将散点图中距前景设定区域以外的区域作为背景,对前景和背景进行区域分割,找到前景和背景之间的边界,将边界以内的部分作为目标细胞群分布区域。

20. 如权利要求 19 所述的装置,其特征不在于第二提取单元在找到前景和背景之间的边界后还对边界进行多边形近似处理,得到多边形门,将门内的细胞作为目标细胞群。

21. 一种流式细胞分析仪,其特征不在于包括:

光学检测设备,用于对被测样本进行光照射,收集粒子因光照射所产生的光信息,并输出与粒子光信息对应的粒子特征数据;

数据处理装置,用于接收粒子特征数据,对粒子特征数据进行处理,所述处理设备包括如权利要求 12-20 中任一项所述的流式多维数据自动分类装置。

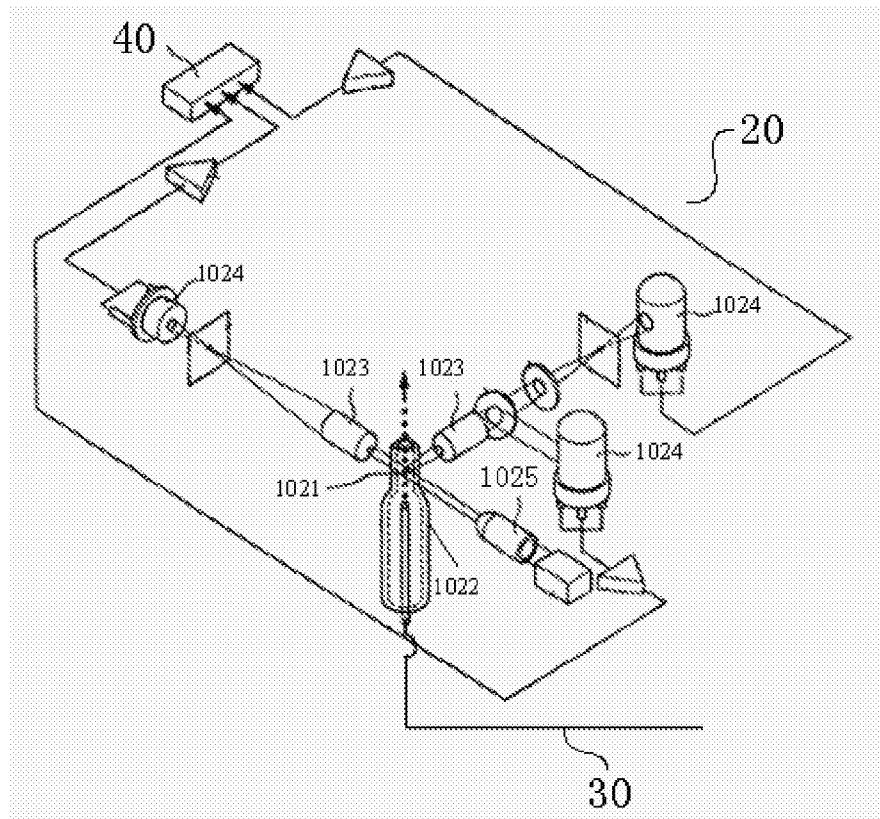


图 1

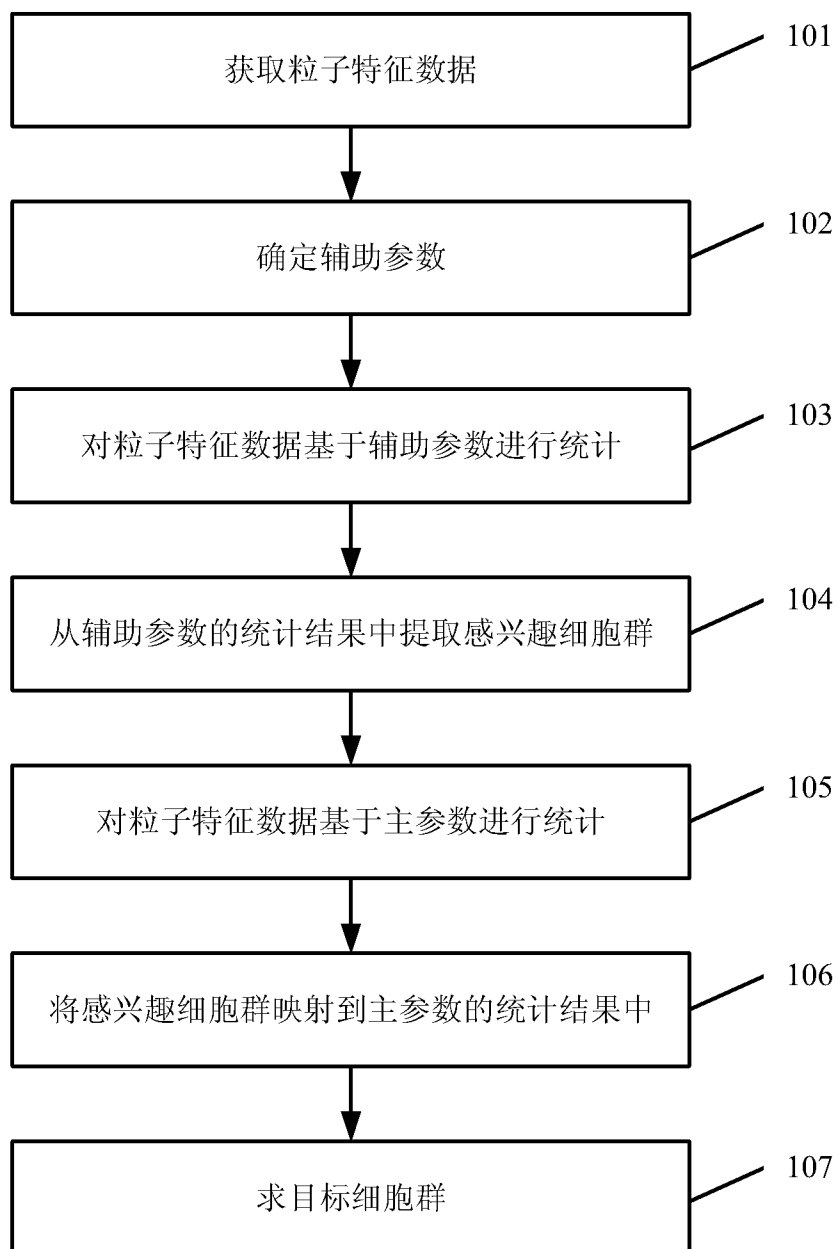


图 2

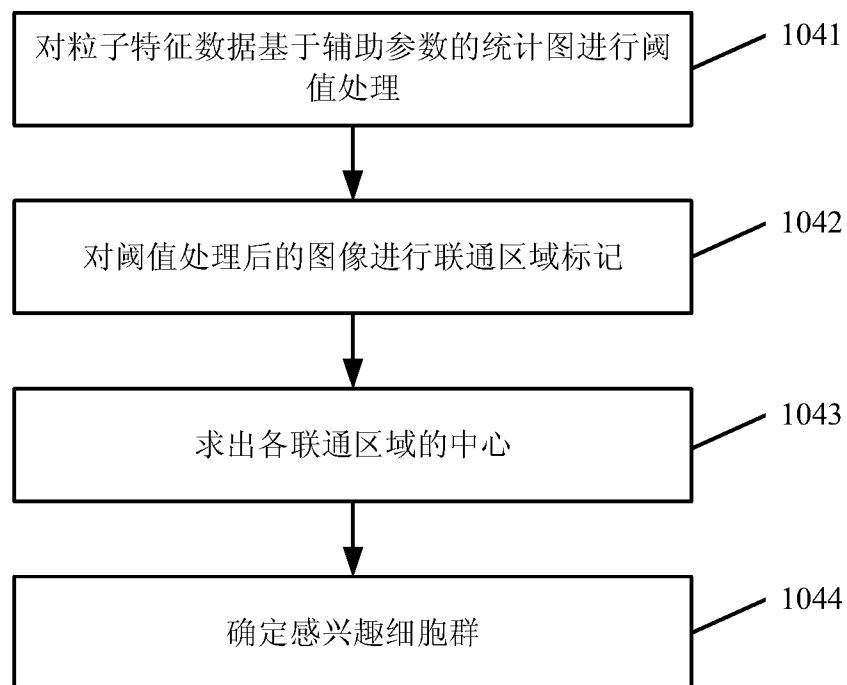


图 3

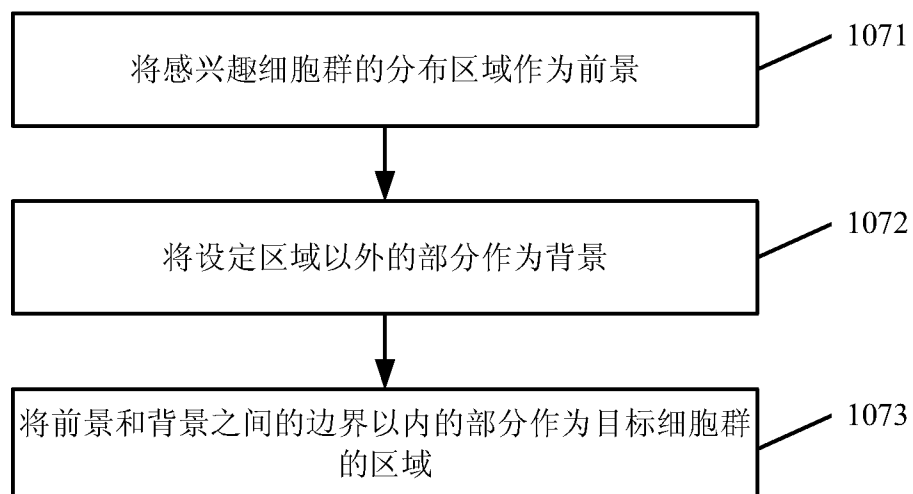


图 4

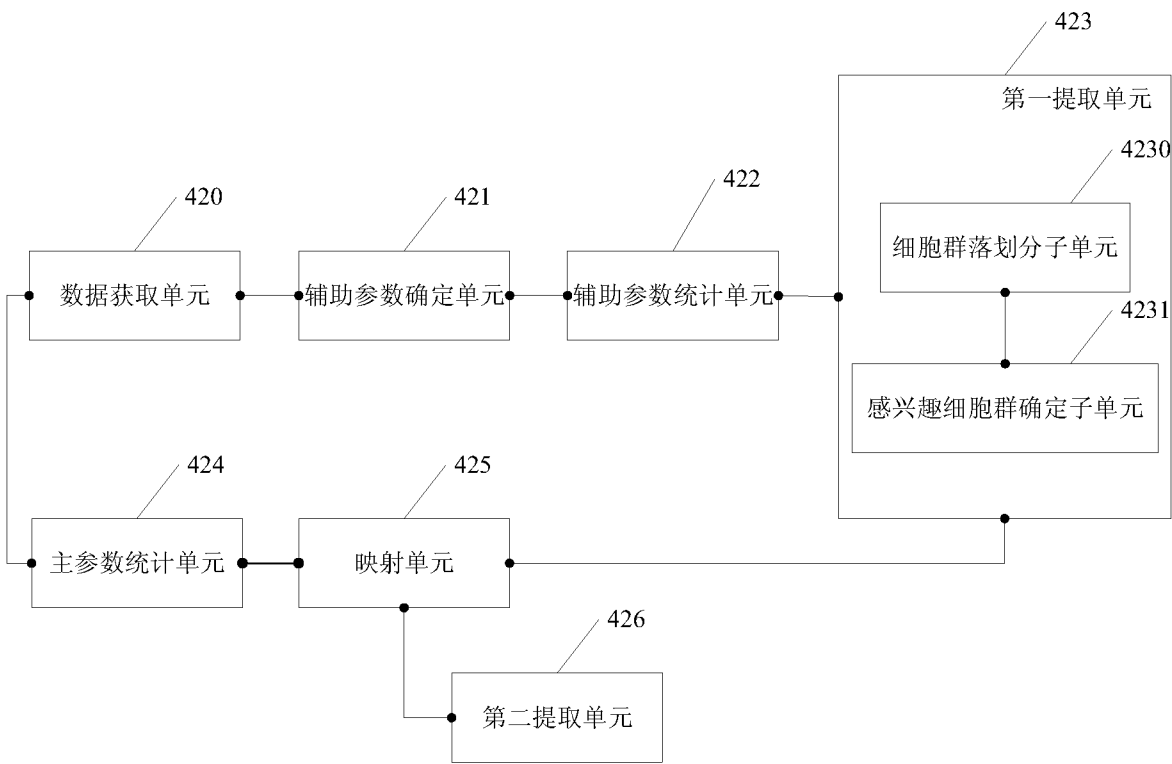


图 5

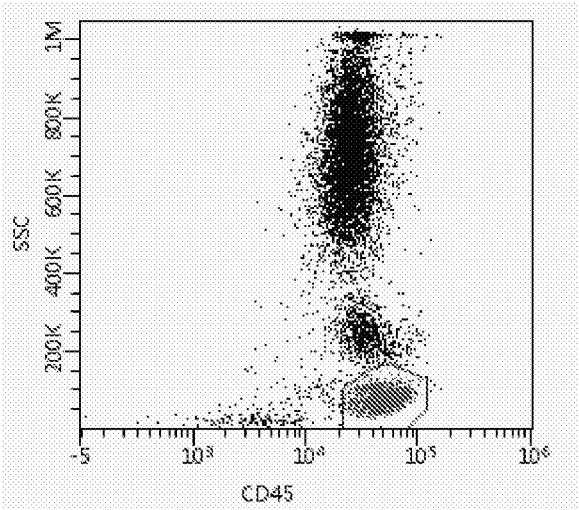


图 6a

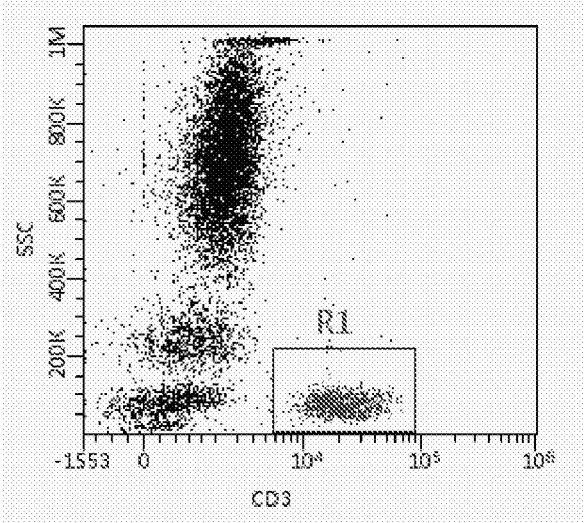


图 6b

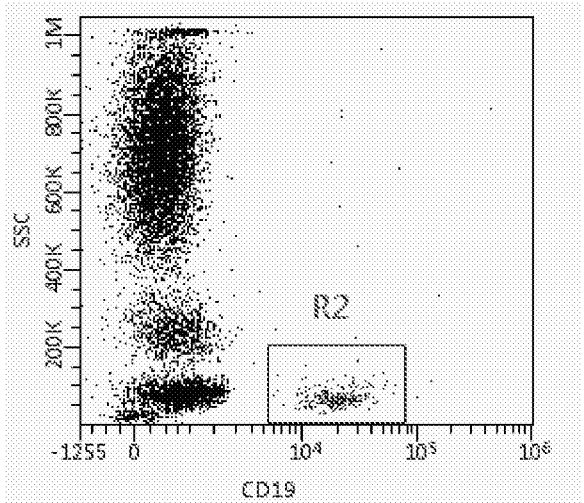


图 6c

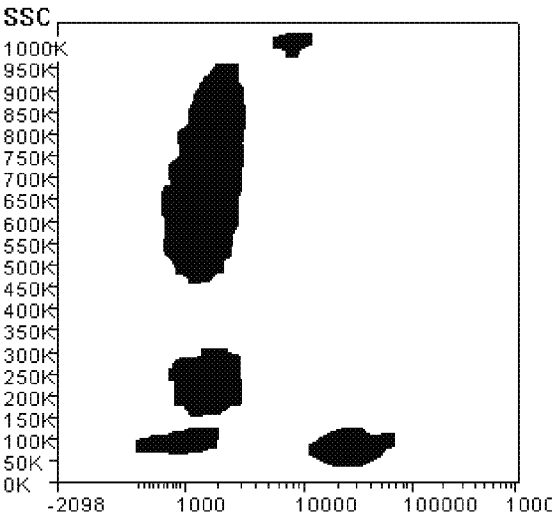


图 6d

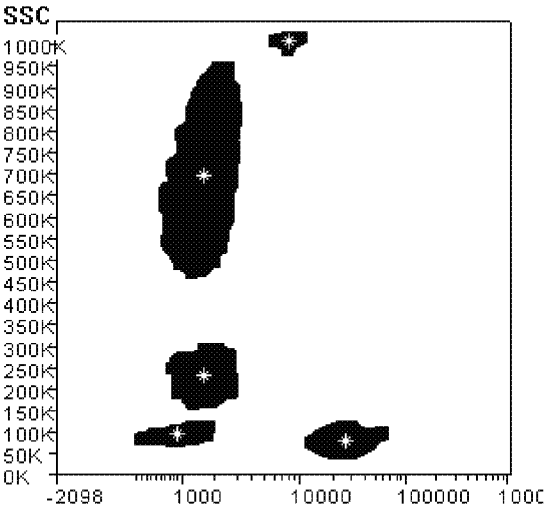


图 6e

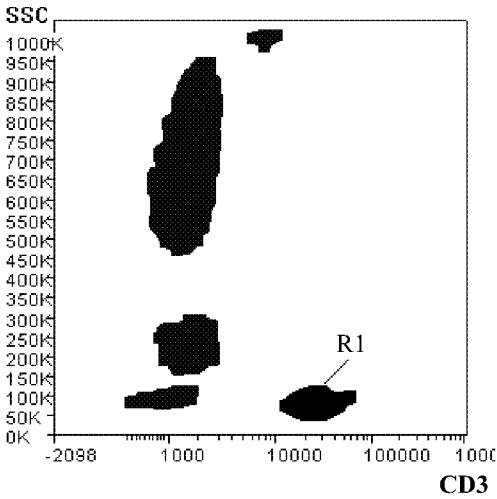


图 6f

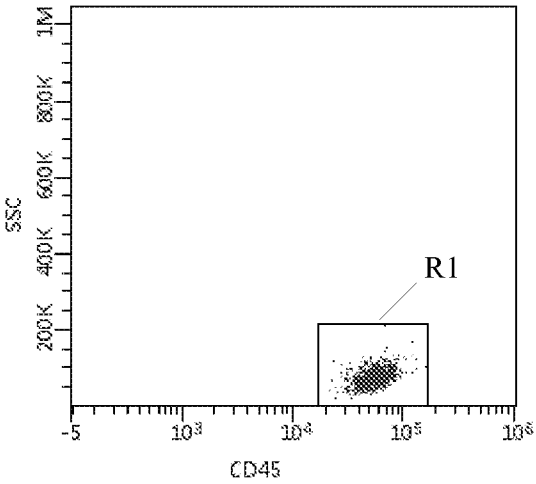


图 6g

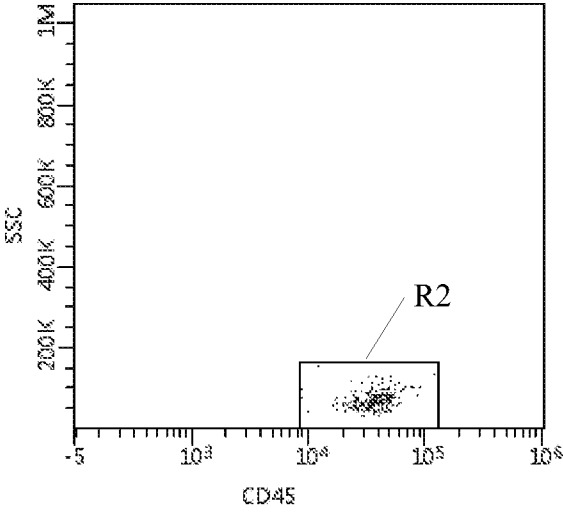


图 6h

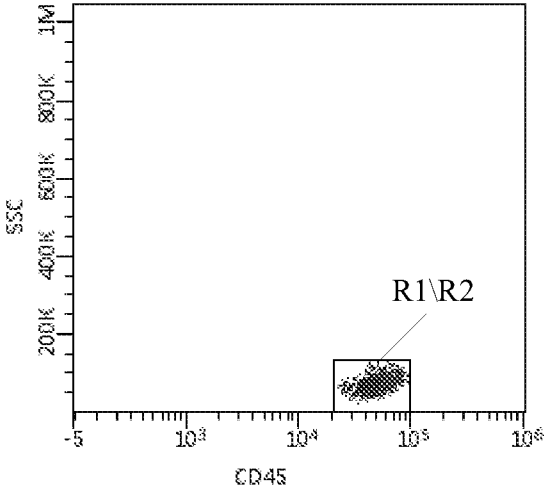


图 6i

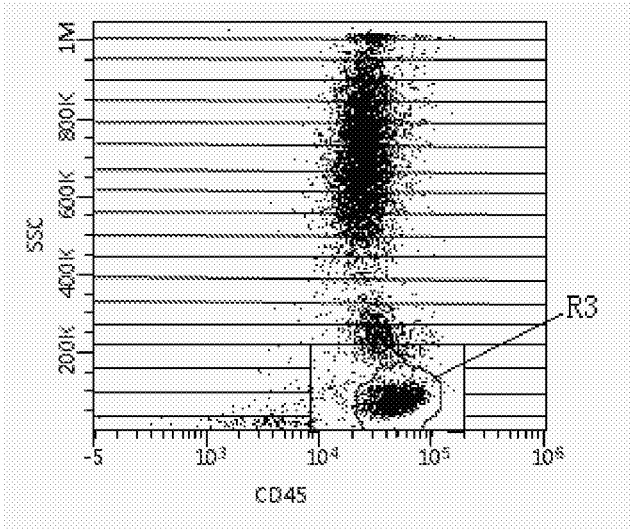


图 6j

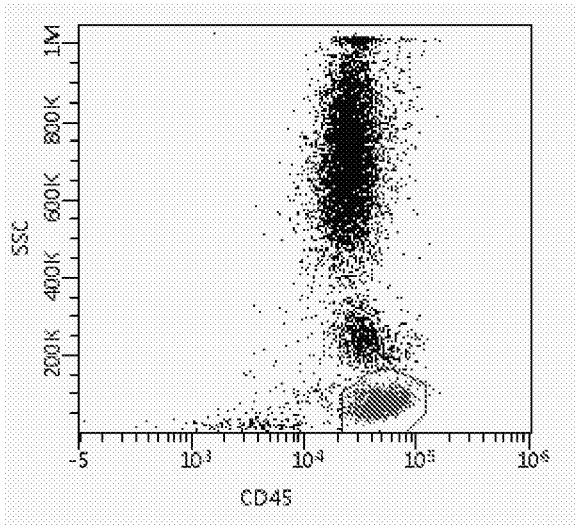


图 6k

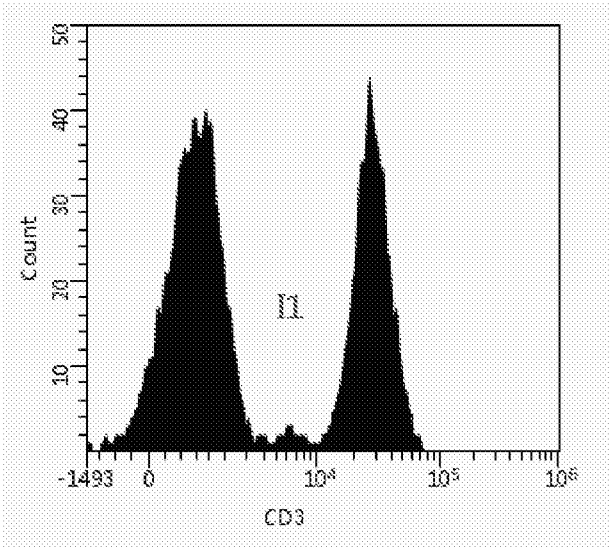


图 7

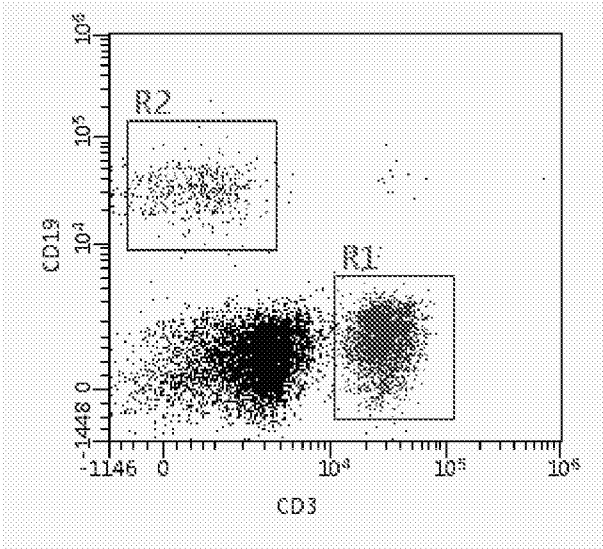


图 8

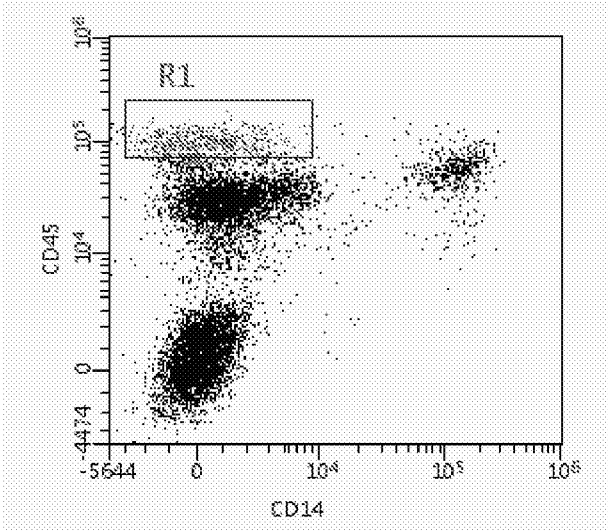


图 9a

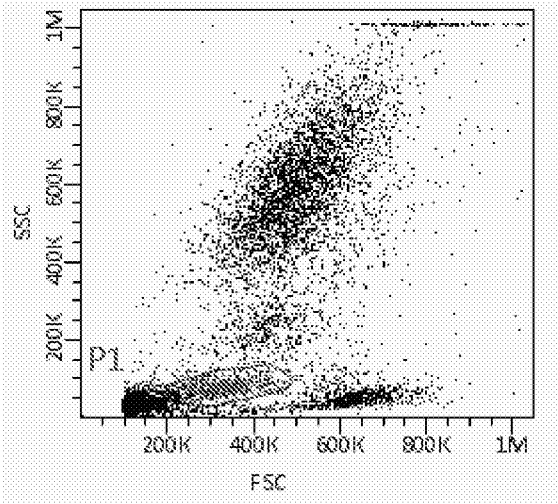


图 9b

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/075613**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

G01N 33/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N, G06K, G06F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNTXT, SIPOABS, CNK: liquid, parameter, group, flow, cytometry, cell, particle, feature, characteristic, classify

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 101226190 A (SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.), 23 July 2008 (23.07.2008), the whole document	1-21
A	CN 102507417 A (DIRUI INDUSTRIAL CO., LTD.), 20 June 2012 (20.06.2012), the whole document	1-21
A	CN 103364324 A (JIASHAN JASDAQ MEDICAL DEVICE CO., LTD.), 23 October 2013 (23.10.2013), the whole document	1-21
A	CN 102227624 A (BECKMAN COULTER, INC.), 26 October 2011 (26.10.2011), the whole document	1-21

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
02 December 2014 (02.12.2014)Date of mailing of the international search report
28 January 2015 (28.01.2015)Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451Authorized officer
CI, Liyan
Telephone No.: (86-10) **62411748**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2014/075613

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101226190 A	23 July 2008	CN 101226190 B	03 July 2013
US 2008172185 A1	17 July 2008		
CN 102507417 A	20 June 2012	CN 102507417 B	09 April 2014
CN 103364324 A	23 October 2013	None	
CN 102227624 A	226 October 01 1	CN 102227624 B	05 March 2014
		US 2010112627 A1	06 May 2010
		WO 2010053912 A1	14 May 2010

A. 主题的分类 G01N 33/00 (2006.01) i 按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号) G01N, G06K, G06F 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用)) CNABS, CNTXT, SIPOABS, CNKI 流, 液体, 细胞, 粒子, 特征, 参数, 分类, 群, flow, cytometry, cell, particle, feature, characteristic, classify		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 101226190 A (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 2008年 7月 23日 (2008 - 07 - 23) 全文	1-21
A	CN 102507417 A (长春迪瑞医疗科技股份有限公司) 2012年 6月 20日 (2012 - 06 - 20) 全文	1-21
A	CN 103364324 A (嘉善加斯戴克医疗器械有限公司) 2013年 10月 23日 (2013 - 10 - 23) 全文	1-21
A	CN 102227624 A (贝克曼考尔特公司) 2011年 10月 26日 (2011 - 10 - 26) 全文	1-21
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2014年 12月 02日		国际检索报告邮寄日期 2015年 1月 28日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局 (ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国 传真号 (86-10)62019451		授权官员 慈丽雁 电话号码 (86-10)62411748

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/075613

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利		公布日 (年/月/日)	
CN	101226190	A	2008年 7月 23日	CN	101226190	B	2013年 7月 03日		
				US	2008172185	A1	2008年 7月 17日		
CN	102507417	A	2012年 6月 20日	CN	102507417	B	2014年 4月 09日		
CN	103364324	A	2013年 10月 23日	无					
CN	102227624	A	2011年 10月 26日	CN	102227624	B	2014年 3月 05日		
				US	2010112627	A1	2010年 5月 06日		
				WO	2010053912	A1	2010年 5月 14日		