

血清免疫固定电泳、蛋白电泳、免疫球蛋白及轻链定量在诊断多发性骨髓瘤中的临床应用*

邱爽, 孟瑞芳, 蒋筱漪, 张会英 (北京积水潭医院检验科, 北京 100035)

摘要:目的 探讨血清免疫固定电泳(IFE)、蛋白电泳(SPE)和免疫球蛋白定量在多发性骨髓瘤(MM)诊断中的作用。方法 选择2012年6月~2013年12月北京积水潭医院符合MM诊断标准的MM患者192例为研究对象,选择同期健康体检者30例为对照组,对MM患者进行免疫固定电泳、血清蛋白电泳和免疫球蛋白及轻链定量检测并对结果进行分析。结果 192例MM患者有120例血清蛋白电泳检出M带,检出率为62.5%;免疫固定电泳174例检出M带,检出率为90.6%;分型结果显示以IgG型最多(106例,55.2%),其中IgG- λ 型66例(34.4%);IgA型次之(36例,18.8%),轻链型最低(24例,12.5%)。免疫球蛋白、轻链定量测定结果显示,在各型MM患者血清中出现相应免疫球蛋白及轻链的变化,与正常对照组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),检出率为67.7%(130/192)。无论是 κ 型还是 λ 型M蛋白, κ/λ 比值均具有明显差异($P < 0.05$),检出率为85.4%(164/192)。结论 免疫固定电泳、免疫球蛋白及轻链定量、 κ/λ 比值测定等免疫学检测在MM诊断中有较好的检出率,能及时为临床提供有效的诊疗指标,减少误诊和漏诊的发生率。

关键词:多发性骨髓瘤;血清蛋白电泳;免疫固定电泳;免疫球蛋白及轻链定量; κ/λ 比值

中图分类号:R733.3;R730.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2015)02-061-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.019

Clinical Application of Immunofixtion Electrophoresis, Serum Protein Electrophoresis and Immunoglobulins and Light Chain Quantitative Analysis in the Diagnosis of Multiple Myeloma

QIU Shuang, MENG Rui-fang, JIANG Xiao-yi, ZHANG Hui-ying

(Department of Clinical Laboratory, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China)

Abstract: Objective To study the effectiveness of the laboratory diagnosis of multiple myeloma(MM) patients with immunofixtion electrophoresis (IFE), protein electrophoresis (SPE) and immunoglobulins and light chain quantitative analysis.

Methods Selected 192 MM patients and 30 healthy controls during June 2012 to December 2013 and analyzed the results of IFE, SPE and immunoglobulins, and light chain quantitative analysis in MM patients. **Results** M protein bands were seen in 120 cases (62.5%) by using SPE and M protein were positive in 174 cases (90.6%) among the 192 MM patients by using IFE. IFE showed that IgG were maximum type of the M protein (106 of 192, 55.2%). There were IgG- λ type 66 cases (34.4%), IgA type 36 cases (18.8%) and free light chain type 24 cases (12.5%). Immunoglobulins of different immunophenotypes had higher than the normal group with serum immunoglobulin and light chain quantitative analysis ($P < 0.05$). The detection rate was 67.7% (130/192). Whatever κ -type M protein or λ -type M protein, the ratio of κ/λ was significantly abnormal ($P < 0.05$). The detection rate was 85.4% (164/192). **Conclusion** The better detection rate of immunological techniques such as immunofixtion electrophoresis and immunoglobulins quantitative analysis might provide valuable basis for the diagnosis and treatment of MM clinically and prevent misdiagnosis.

Keywords: multiple myeloma; immunofixtion electrophoresis; protein electrophoresis; immunoglobulins and light chain quantitative analysis, κ/λ ratio

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是B细胞起源的浆细胞恶性增殖性疾病。MM患者骨髓内大量单克隆浆细胞株异常增生而分泌M蛋白,破坏骨髓造血功能并分泌单克隆免疫球蛋白及其片段。该病起病隐匿,临床表现多样化,极易发生漏诊误诊,因此对MM的早期诊断及鉴别具有重要的临床意义。本文结合血清蛋白电泳、免疫固定电泳和免疫球蛋白定量等检测手段,对192例

MM患者进行了实验室诊断指标的综合分析。

1 材料与方法

1.1 研究对象 入选对象为2012年6月~2013年12月北京积水潭医院符合MM诊断标准的MM患者192例,诊断标准参考张之南主编的第3版《血液病诊断及疗效标准》。192例MM患者中,男性122例,女性70例,年龄43~80岁,平均年龄为59.2±12.1岁。收集同期健康体检者30例为

* 作者简介:邱爽(1978-),女,硕士,主管技师,从事临床生化检验, Tel:010-58398872, E-mail:qiudashuang@126.com。
通讯作者:张会英,主任技师,主要从事临床生化检验及实验室管理。

对照组,为本院体检健康者,男性17例,女性13例。年龄45~71岁,平均年龄为56.9±6.3岁,所有观察对象均排除心脑血管及肝肾疾病,无相关疾病史和家族史。

1.2 试剂与仪器 血清蛋白电泳采用意大利 Interlab 公司 Microtech 696PC 全自动电泳仪及配套试剂血清蛋白电泳分析试剂盒(SRE601K),免疫固定电泳采用意大利 Interlab 公司 Microtech 696PC 全自动电泳仪及配套试剂盒,由北京琥珀斯技贸有限责任公司提供。免疫球蛋白及轻链定量测定采用美国 Beckman 公司的 Immage800 全自动免疫化学分析仪及配套试剂:免疫球蛋白 G 试剂盒,免疫球蛋白 A 试剂盒,免疫球蛋白 M 试剂盒,轻链 KAP 试剂盒,轻链 LAM 试剂盒,均由北京美康百泰医药科技有限公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 血清蛋白电泳:Interlab SRE601K 试剂盒用于全自动电泳分析系统 Microtech 696PC 中,通过碱性 pH 值条件下进行的血清蛋白琼脂糖凝胶电泳。当电泳分离过程结束后,凝胶片通过氨基黑进行染色及脱色处理,然后将胶片烘干和进行光密度计扫描获取各区带的百分率,采用配套软件进行分析。

1.3.2 免疫固定电泳:Interlab 免疫固定试剂盒用于全自动电泳分析系统 Microtech 696PC 中,其分析步骤包括点样、区带电泳、人工处理、变性、洗涤、染色、脱色和烘干,光密度计扫描获取各区带百分率,采用配套软件进行分析。

1.3.3 免疫球蛋白及轻链定量:免疫球蛋白 G (IgG),免疫球蛋白 A (IgA),免疫球蛋白 M (IgM),轻链 KAP (Kappa),轻链 LAM (Lambda) 均采用免疫比浊法定量测定。

1.4 参考范围 IgG 7.51~15.6 g/L, IgA 0.82~4.53 g/L, IgM 0.46~3.04 g/L, κ/λ 比值 1.47~2.95。

1.5 标本采集 采用分离胶型真空采血管采集 3 ml 静脉血标本,及时离心分离血清避免溶血。

1.6 统计学分析 用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。免疫球蛋白及轻链定量采用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,组间比较采用两样本 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MM 患者年龄与性别分布 192 例 MM 患者中,50 岁以下 40 人,50~60 岁 76 人,60~70 岁 48 人,70 岁以上 28 人。发病率 36.46%,其中以 ≥ 50 岁者居多,占 79.2% (152/192); 男性多于女性,男:女=122:70,男性发病率为女性的 1.74

倍,见表 1。

表 1 MM 患者年龄及性别分布及发病率 [$n=192, n(\%)$]

年龄(岁)	发病率(%)		合计
	男性	女性	
<50	26(13.54)	14(7.29)	40(20.8)
50~60	66(34.38)	10(5.21)	76(39.6)
60~70	16(8.33)	32(16.67)	48(25)
>70	14(7.29)	14(7.29)	28(14.6)

2.2 血清蛋白电泳结果 192 例 MM 患者血清蛋白电泳中,120 例检出 M 带检出率为 62.5% (120/192),30 例 M 蛋白分布在 B 区带,90 例 M 蛋白分布在 λ 区;其余 72 例出现极不明显或不出现 M 带。

2.3 MM 患者的免疫分型 192 例 MM 经免疫固定电泳分析后,有 174 例均可与对应抗血清形成单克隆条带,各型均呈现明显浓集的条带,检出率为 90.6% (174/192)。免疫固定电泳分型结果显示,192 例 MM 患者 M 蛋白以 IgG 类最多见,其中 IgG- λ 型多见;IgA 类次之,IgA- κ 型多见;轻链类 24 例中以 λ 型多见;192 例未检出 IgM 型及 IgD 型;有 21 例为未分泌型,见表 2。同时还检出 5 例双克隆 M 蛋白:1 例为 IgA- κ 双克隆型,2 例为 IgA- λ 双克隆型,2 例为 IgG- λ 伴轻链型,见图 1。MM 患者免疫分型年龄分布资料显示,除 70 岁以上组外,各年龄段 M 蛋白分布均以 IgG- λ 型为多见,见表 3。

表 2 192 例 MM 患者的免疫分型

免疫分型	$n(\%)$	κ 型 [$n(\%)$]	λ 型 [$n(\%)$]
IgG	106(55.2)	40(20.8)	66(34.4)
IgA	36(18.8)	28(14.6)	8(4.2)
轻链	24(12.5)	6(3.1)	18(9.4)
双克隆	5(2.6)	—	—
非分泌型	21(10.9)	—	—

表 3 MM 患者免疫分型年龄分布 (n)

年龄	<i>n</i>	IgG- κ	IgG- λ	IgA- κ	IgA- λ	κ	λ	双克隆	非分泌型
<50	40	6	14	6	2	—	4	1	7
50~60	76	14	22	16	4	4	12	1	3
60~70	48	8	18	6	2	—	2	2	10
>70	28	12	12	—	—	2	—	1	1

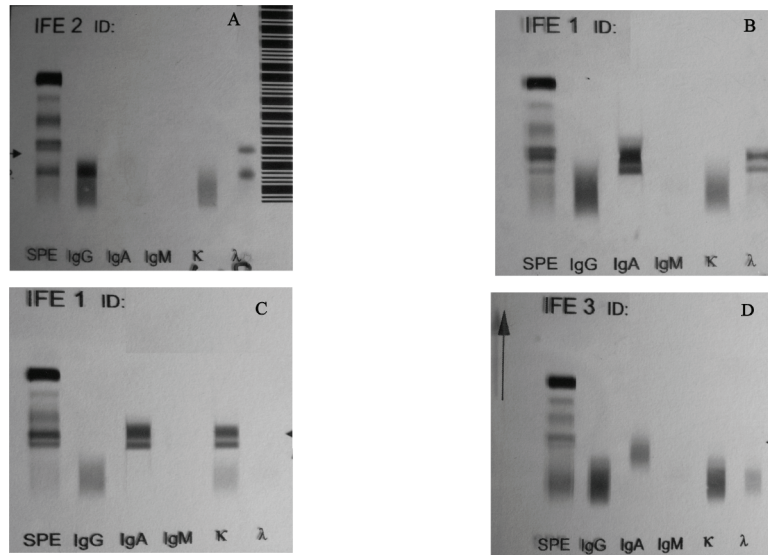
2.4 免疫球蛋白及轻链定量测定 IgG 型 MM 组中,血清免疫球蛋白及轻链含量均出现相应的变化,与正常对照组相比差异具有统计学意义 ($t=3.17\sim 16.23, P$ 值均 <0.05)。IgA 型及轻链型 MM 患者血清免疫球蛋白及轻链定量结果也出现相应变化,与正常对照组比较差异具有统计学意义 ($t=5.83\sim 13.22, P$ 值均 <0.05),见表 4。依据免疫球蛋白及轻链定量测定的参考值范围作为判断标准,MM 患者免疫球蛋白及轻链定量测定的检

出率为 67.7% (130/192)。IgG 型、IgA 型及轻链组中, κ 型 MM 患者 κ/λ 比值均显著增高, λ 型患者 κ/λ 比值均显著降低, 与正常对照组比较差异均

具有统计学意义 ($t=1.23\sim 9.24, P$ 值均 <0.05), 见表 4。依据 κ/λ 比值 <1.47 或 >2.95 作为判断标准, κ/λ 比值测定的检出率为 85.4% (164/192)。

表 4 MM 患者血清免疫球蛋白及轻链定量测定及 κ/λ 比值 ($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组 (n=30)	IgG 型 MM		IgA 型 MM		轻链型 MM	
		κ 型	λ 型	κ 型	λ 型	κ 型	λ 型
κ (g/L)	6.41±0.19	33.3±4.61	3.52±0.87	23.6±4.84	3.24±1.04	16.4±2.93	3.15±1.33
λ (g/L)	3.92±0.1	1.23±0.13	22.2±4.90	2.39±1.07	17.6±5.55	2.03±0.21	13.7±4.16
κ/λ	1.98±0.12	42.95±13.2	0.49±0.11	30.24±14.4	0.77±0.15	5.18±1.94	0.64±0.22
IgG(g/L)	13.90±0.78	39.7±5.33	45.8±8.51	6.12±1.23	8.58±1.13	4.16±0.92	6.10±1.07
IgA(g/L)	2.37±0.22	0.87±0.15	0.68±0.21	18.5±6.92	13.6±2.85	0.54±0.09	0.47±0.08
IgM(g/L)	1.09±0.12	0.34±0.09	0.40±0.05	0.22±0.09	0.18±0.04	0.23±0.06	0.43±0.04



A. IgG- λ 伴轻链 λ 型; B. IgA- λ 双克隆型; C. IgA- κ 双克隆型; D. 健康对照组。

图 1 3 例双克隆 M 蛋白血清免疫固定电泳图

3 讨论 多发性骨髓瘤(MM)年发病率约 1.3~5/10 万,在许多国家是发病率位居第二位的血液恶性肿瘤,男性多发于女性,中位发病年龄 57~63 岁。本文的研究资料显示患者年龄 50 岁以上者占 79.2%,男性发病率为女性的 1.74 倍。MM 患者的免疫学特征表现为血、尿中出现某种免疫球蛋白,其他的免疫球蛋白水平明显降低,临床表现缺乏特征性,常表现为骨痛、病理性骨折、贫血、肾功能不全和感染等,极易发生误诊和漏诊。周靖泳等^[1]荟萃分析报道 2 491 例 MM 初诊患者中 1 406 例发生误诊,误诊率达 56.44%。由于大多数患者首诊于非血液科门诊,入院后治疗效果不佳,通过进一步的实验室检查、形态学及影像学结果方能正确判断并及时转科治疗。因此较早发现误诊或漏诊对患者的治疗和预后有着重要意义。本文结合血清蛋白电泳、免疫固定电泳和免疫球蛋白及轻链定量等检测手段对 MM 患者进行综合分析。192

例 MM 患者检出 M 蛋白以 IgG 类最多见 (55.2%),以 IgG- λ 型为主;IgA 类次之(18.8%),IgA- κ 型更为多见;轻链类为 12.5%,检出 5 例双克隆型,未检出 IgM 型及 IgD 型,有 21 例为未分泌型。M 蛋白的分布与文献报道一致^[2~3]。在免疫球蛋白及轻链定量检测中根据 M 蛋白型别而出现相应的免疫球蛋白定量水平异常,同时在各型 MM 中, κ/λ 比值都会出现显著的异常, κ 型比值显著升高, λ 型比值则显著降低。 κ/λ 比值对于判断免疫球蛋白的增生为多克隆还是单克隆时具有重要意义^[4],另外,无论免疫球蛋白增高多少,只要 κ/λ 比值正常,大部分情况是属于多克隆增殖,反之则为单克隆增殖。因而在检测 M 蛋白时,应同时结合检测 κ/λ 比值,为诊断 MM 提供有力依据。本文所用的血清轻链定量技术测定的是血清总轻链,包括完整免疫球蛋白包含的轻链及血清游离轻链 (serum lightchain, sFLC),不能准确反映血清中

游离轻链的水平变化,部分轻链型MM患者可能因其轻链未达到测定范围而导致漏诊。近年来也不断发展出新的免疫学检测方法如分子细胞遗传学分析、应用流式细胞术进行免疫分型及血清游离轻链检测技术等^[5,6]。血清游离轻链检测技术对于浆细胞类疾病的诊断、预后及监测已得到国内外的公认^[7,8]。sFLC对于MM的诊断、治疗及监测疾病中的应用也日益突出,但相关研究尚存在争议,仍需进一步研究探讨。一方面血清游离轻链试剂盒种类少,现有的sFLC的两个试验系统:FLC多克隆抗体的Freelite法和FLC单克隆抗体的Siemes系统,两个方法测定结果不完全一致,需要大量的临床研究以评价它们的临床价值^[8];同时sFLC定量检测缺乏国际参考品,不同检测方法的结果之间没有可比性。因此sFLC定量检测目前尚不适于在临床广泛开展。而血清总轻链测定具备成熟的检测技术和仪器、配套试剂、校准品及质控品,能更好地普及于临床开展,本文数据也显示免疫球蛋白及血清总轻链及 κ/λ 比值具有较好的检出率(67.7%,85.7%),对MM患者的诊断及治疗具有一定的临床意义。本文数据中血清蛋白电泳检出率为62.5%,免疫固定电泳检出率为90.6%,与文献一致^[4,9]。综上所述,免疫学检测方法显示出在MM实验室检测中的优势,临床普及及常规开展免疫学检测技术,具备简便快捷、效果显著、痛苦较小等优势,能较好地辅助临床对MM的诊治需求,并为误诊或漏诊提供纠正依据。

参考文献:

- [1] 周靖泳,汤华,王娟.多发性骨髓瘤误诊荟萃分析[J].白血病·淋巴瘤,2013,22(8):483-486,490.
Zhou JY, Tang H, Wang J. The meta-analysis of misdiagnosis of multiple myeloma[J]. Journal of Leukemias & Lymphoma, 2013, 22(8): 483-486, 490.
- [2] 周健,陈安辉,季荏,等.多发性骨髓瘤患者M蛋白水平的回顾性分析[J].临床检验杂志,2012,30(3):231-232.
Zhou J, Chen AH, Ji J, et al. Patients with multiple myeloma M protein levels were retrospectively analyzed[J]. J Chin Lab Sci, 2012, 30(3): 231-232.
- [3] 刘玉梅,赵有利,石翀,等.107例多发性骨髓瘤M蛋白检测与免疫学分型分析[J].现代检验医学杂志,2011,26(4):132-134.
Liu YM, Zhao YL, Shi C, et al. M protein detection and immunology typing analysis of 107 patients with Multiple Myeloma[J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(4): 132-134.
- [4] 康懿,刘华,王蕾,等.血清 κ/λ 轻链比值及蛋白电泳在诊断多发性骨髓瘤中的临床应用[J].检验医学,2011,26(10):675-678.
Kang Y, Liu H, Wang L, et al. The clinical application of serum κ/λ light chain ratio and protein electrophoresis in the diagnosis of Multiple Myeloma[J]. Laboratory Medicine, 2011, 26(10): 675-678.
- [5] 邸平,潘玉玲,王成彬.鉴别诊断多发性骨髓瘤实验方法新进展[J].医学综述,2014,20(6):1012-1014.
Di P, Pan YL, Wang CB. New progress of experimental methods on differential diagnosis of Multiple Myeloma[J]. Medical Recapitulate, 2014, 20(6): 1012-1014.
- [6] 胡豫,孙春艳.多发性骨髓瘤的诊断进展[J].临床血液杂志,2012,25(7):406-410.
Hu Y, SUN CY. Progress in the diagnosis of Multiple Myeloma[J]. J Clin Hematol, 2012, 25(7): 406-410.
- [7] Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International myeloma working group guidelines for serum free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders[J]. Leukemia, 2009, 23(2): 214-224.
- [8] 王继贵.用血清游离轻链分析法检测单克隆 γ -病[J].实验与检验医学,2014,32(3):233-236.
Wang JG. Serum free light chain analysis method is used to inspect monoclonal gamma disease[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2014, 32(3): 233-236.
- [9] 王育芳,王佳丽,马顺高.血清蛋白电泳和免疫固定电泳在多发性骨髓瘤中的应用分析[J].检验医学与临床,2013,10(5):577-579.
Wang YF, Wang JL, Ma SG. Serum protein electrophoresis and immune fixation electrophoresis in the analysis of application of Multiple Myeloma[J]. Lab Med Clin, 2013, 10(5): 577-579.

收稿日期:2014-11-25 修回日期:2015-01-27

(上接60页)

- [8] Serruys PW, Garcia-Garcia HM, Buszman P, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque[J]. Circulation, 2008, 118(11): 1172-1182.
- [9] 叶芸,李苏亮.脑卒中患者血浆Lp-PLA2水平及临床意义探讨[J].检验医学,2014,29(3):249-253.
Ye Y, Li SL. Plasma Lp-PLA2 level and its Clinical Significance in patients with stroke[J]. Laboratory Medicine, 2014, 29(3): 249-253.
- [10] del Zoppo GJ, Mabuchi T. Cerebral microvessel responses to focal ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(8): 879-894.
收稿日期:2014-11-13
修回日期:2015-01-21