

• 个案与短篇 •

几种联合试验检验 1 例双克隆 IgG-2K 轻链型多发性骨髓瘤诊断体会

杨 辛, 范 君, 吴颖稚, 张庆五
(上海市杨浦区控江医院检验科, 上海杨浦 200093)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.066 文献标识码:C 文章编号:1673-4130(2014)20-2856-02

M 蛋白是浆细胞或 B 淋巴细胞单克隆恶性增殖所产生的一种异常免疫球蛋白,其本质是一种免疫球蛋白或免疫蛋白的片段。因其多见于多发性骨髓瘤(MM)、巨球蛋白血症及恶性淋巴瘤,都是以 M 开头的疾病,故称为“M 蛋白”。本院 1 例直肠癌术后 2 年的住院患者,检验科实验室血清及尿液蛋白电泳检查出“M 蛋白”,经过进一步试验最终确诊为 1 例双克隆 IgG-2K 轻链,现将患者资料报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 7 月在本院 1 例直肠癌术后 2 年的晚期住院患者,检验科实验室血尿蛋白电泳检查出“M 蛋白”,然后采用血清免疫球蛋白定量,血清免疫固定电泳,对患者标本进行同时检测。

1.2 仪器与试剂 血尿蛋白电泳及免疫固定电泳采用 Hydrasys(法国 Sebia)半自动电泳仪,配套试剂由 Sebia 公司提供。毛细血管蛋白电泳及免疫固定电泳采用 Capillarys(法国 Sebia)全自动电泳仪,配套试剂由 Sebia 公司提供。血清免疫球蛋白定量采用 BNProspec(德国 Siemens)全自动免疫散射比浊分析仪,配套试剂由 Siemens 公司提供。

1.3 方法 抽取清晨空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 分离血清 10 min,避免溶血和脂血。尿液选用尿蛋白定性为阳性晨尿。

1.3.1 血尿蛋白电泳采用琼脂糖凝胶膜片电泳 取 10 μ L 血清标本于加样梳在琼脂糖凝胶板上电泳,干燥,染色(血清染料为氨基黑,尿液染料为酸性紫罗兰),脱色,烘干,扫描,报告结果。

1.3.2 血免疫固定电泳 加样:先将患者血清稀释后,加 10 μ L 于加样梳小孔内,用 pH8.8 琼脂糖膜片进行电泳以分离蛋白质。免疫固定加抗血清:电泳后分别加固定液 12 μ L,后再加 IgG、IgA、IgM、抗 λ 和抗 κ 抗血清各 12 μ L,25 $^{\circ}$ C 孵育 5 min,再用厚滤纸覆盖与凝胶片上吸去表面的固定液和水分,65 $^{\circ}$ C 烘干 6 min。染色-脱色:将烘干的凝胶片置于染色缸内用结晶紫染色液染色,然后用 0.5%柠檬酸脱色液进行脱色以除去剩余染料。观片:烘干胶片,观察结果。

1.3.3 本周氏蛋白血清免疫固定电泳 先将患者血清 1:10 稀释后,取 10 μ L 用 0.5%柠檬酸脱色液进行脱色以除去剩余染料。观片:烘干胶片,观察结果。加样梳小孔内,用 pH8.8 琼脂糖膜片进行电泳以分离蛋白质。免疫固定加抗血清:电泳后分别加固定液 12 μ L,后再加抗 λ 、抗 κ 、游离和抗 λ 游离抗 κ 抗血清各 12 μ L,25 $^{\circ}$ C 孵育 5 min,再用厚滤纸覆盖与凝胶片上吸去表面的固定液和水分,65 $^{\circ}$ C 烘干 6 min。染色-脱色:将烘干的凝胶片置于染色缸内用结晶紫染色液染色,然后用 0.5%柠檬酸脱色液进行脱色以除去剩余染料。观片:烘干胶片,观察结果。

1.3.4 毛细管血清蛋白电泳 首先从原样本内吸取 40 μ L 的样本并且吸取 160 μ L 的缓冲液加入稀释杯。清洗吸样针后,

再同样方式稀释 1—8 号试管。当稀释完成后,封闭池以 20 μ Pa 的负压压力,通过 8 根毛细血管吸取约 1 μ L 的样本,同时毛细血管两段加 7 800 v 的电压进行蛋白分离。电泳完毕后,通过在 200 N 紫外光下进行扫描直接检测蛋白质,系统屏幕上出现 7 个蛋白区带电泳图谱。

1.3.5 毛细管免疫固定电泳 读取样品架和样品试管上的条形码。用抗血清杯的稀释液稀释样品,然后分别与蛋白电泳(ELP)溶液、抗 IgG、抗 IgA、抗 IgM、抗 κ 和抗 λ 的抗血清混合,在每次处理样品后清洗稀释针,对每份样品执行所选的稀释程序,清洗毛细管,将稀释后的药样品和试剂注入毛细管,稳压电压下进行。电泳完毕后,通过在 200 N 紫外光下进行扫描直接检测蛋白质,系统屏幕上出现电泳图谱。结果判断:ELP 图谱与抗血清图谱(IgG、IgA、IgM、 κ 、 λ)的叠加可以鉴定单克隆成分。血清免疫球蛋白定量采用免疫散射比浊法,上述试验均按公司提供的说明书进行检测。

2 结 果

1 例双克隆多发性骨髓瘤患者血清蛋白电泳扫描图谱及结果见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。血清琼脂糖凝胶膜片血清蛋白电泳图谱见图 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。血清琼脂糖凝胶膜片尿液蛋白电泳图谱见图 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。血清琼脂糖凝胶膜片免疫固定电泳图谱见图 4(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。本周氏蛋白血清琼脂糖凝胶膜片免疫固定电泳见图 5(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。毛细管血清蛋白电泳见图 6(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。毛细管免疫固定电泳见图 7(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。血清免疫球蛋白定量检测结果:IgG 17.36 g/L,IgM 1.07 g/L,IgA 2.97 g/L,IgE 610 IU/mL,CA724 62.29 U/mL。

3 讨 论

多发性骨髓瘤(MM)是恶性浆细胞病中最常见的一种类型,又称骨髓瘤,其特征是单克隆浆细胞恶性增殖并分泌大量单克隆免疫球蛋白,也可分为 IgG、IgA、IgM、IgD、IgE、轻链(λ 和 κ)、双克隆或多克隆型以及不分型 8 种类型^[1]。从上述图 1 至图 5 结果分析,该患者血清(22 号泳道)及尿(8 号泳道)免疫固定电泳 γ 区均出现双 M 带,血清蛋白电泳结果 γ 升高 25.9%。尿蛋白电泳结果本周氏蛋白出现^[2]。血清免疫固定电泳 IgG、 κ 在 γ 区均可见两条双峰的异常浓集区带, γ 有一条异常浓集区带^[3]。本周氏蛋白免疫固定电泳,IgG、 κ 在 γ 区出现异常浓集区带。实验显示血清和本周氏蛋白免疫固定电泳出现结果不一致^[4]。为了进一步证实,采用毛细管血清蛋白电泳和免疫固定电泳检测,从图 6、图 7 发现毛细管血清蛋白电泳和血清琼脂糖凝胶膜片电泳扫描结果及图谱一致。而毛细管血清免疫固定电泳显示 ELP 图谱与抗血清图谱叠加后,IgG、 κ 在 γ 区均可见两条双峰出现消融(抗原与抗体形成复合

物)^[5-6],最终得出双 M 带属于双克隆 IgG、2κ 轻链型。由于毛细管电泳技术是将带电粒子以毛细管为分离室,以高压直流电场为驱动力,依据样品中各组之间的淌度差异而实现分离的液相分离分析技术。由于毛细管内径小,表面积和体积的比值大,易散热,因此毛细管电泳可以减少焦耳热产生。另外操作方法上先将脱盐的试样(蛋白质)大于 1 % 的浓度与两性电解质溶液混合,用压力进样充入毛细管柱(阳极端),置于阳极电解质溶液 H₃PO₄ 中,置于阴极电解质如 NaOH 中。施加电压进行电泳实验两性电解质离子形成 PH 的位置梯度,而蛋白质在迁移时会在其等电点的 PH 区域内停止移动。这样 PI 不同的蛋白质各组会在毛细管内很窄的不同 PH 区域内聚焦。在阴极、阳极电解质溶液中加入盐如 NaOH 或 NaCl,破坏 PH 梯度使各组蛋白质重新带点,电场作用下发生迁移、检测,使不同组的蛋白质得到分离。而琼脂糖凝胶膜片技术是受到焦耳热的限制,只能在低电场强度下进行电泳操作,分离时间长,效率低。另外琼脂糖凝胶膜片在免疫固定电泳中还要注意样本的稀释比例,否则抗原浓度过高,会出现拖尾和较窄沉淀带以及出现后带现象,影响结果的判断。随着电泳技术发展,琼脂

• 个案与短篇 •

糖凝胶膜片在做介质诊断多发性骨髓瘤分型上还存在一定问题,对于罕见多发性骨髓瘤病历应当借助毛细管电泳进一步确认。

参考文献

[1] 郑伟,孟冬娅,王一楠,等. 免疫固定电泳与 M 蛋白血症相关性的研究[J]. 中国实验诊断学,2007,11(2):238-240.

[2] 李志勤,傅光祥. 血清蛋白电泳及免疫固定电泳的临床应用[J]. 检验医学与临床,2008,5(11):668-669.

[3] 刘金英,翟玉华,孙卫红. 免疫固定电泳技术在 M 蛋白免疫分型中的应用[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(5):57-57.

[4] 杨志钊,杨山虹,郭子文,等. 本周氏蛋白电泳在 M 蛋白检测中价值的探讨[J]. 中国热带医学,2006,6(12):2180-2181.

[5] 甘志彪,陈昕,吴文苑,等. 毛细管免疫固定电泳血清分型技术的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(10):1271-1272.

[6] 周小棉,邹晓,陈顺金. 血清蛋白的毛细管电泳分析[J]. 临床检验杂志现代检验医学杂志,2006,21(05):58-59.

(收稿日期:2014-05-18)

肝囊肿囊泡液涂片显微镜检出细粒棘球绦虫 1 例

谢志雄¹,林明珠²,江先海¹,徐忠玉¹

(中国人民解放军第一七五医院暨厦门大学附属东南医院:1. 检验科;2. 病理科,福建漳州 363000)

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 20. 067

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2014)20-2857-02

1 病例资料

患者,男,30 岁,因“于广西某医院体检时发现肝脏占位 3 d”入院,查体:全身皮肤、巩膜无黄染,浅表淋巴结未触及肿大,心肺听诊未闻及异常。腹部平坦,未见肠形及蠕动波,可见腹壁静脉轻度曲张;腹肌软,无压痛,未触及明显肿物,肝、脾肋下未触及肿大,墨菲征阴性;肝、脾及双肾区无叩痛,肝浊音界正常存在,移动性浊音阴性;肠鸣音正常,约 4~5 次/分,未闻及气过水音及高调金属音。入院完善相关检查,血常规、肝肾功、凝血因子五项、肿瘤标志物、尿粪常规均未见明显异常。血型(BG):O 型、RH 血型鉴定阳性。心电图:窦性心动过速。胸片:右上肺少许结核。CT:肝右后叶良性占位,请结合临床,除外寄生虫感染。肝左外侧叶钙化灶。临床诊断考虑:肝右后叶囊肿,寄生虫性囊肿可能性大,拟行“肝囊肿切除术”。术中取出大小约 6 cm×5 cm×4 cm 囊肿,包膜完整,送病理检查和检验科寄生虫学检验。囊肿大小 6 cm×5 cm×4 cm,其中见灰白色囊泡多个,小米至鸡蛋大,囊泡内为透明液体,另见灰黄色胶冻样物,周围肝组织棕红棕黄色,见图 1。

病理切片伊红(HE)染色检查:送检肝组织囊肿壁未见明显内衬上皮,囊壁为增生变性的纤维组织;壁间见不等量炎细胞浸润,以淋巴细胞及嗜酸性粒细胞为主;局部淋巴细胞聚集,囊内囊泡壁为层状、条带状分布均匀粉染的无结构物;包膜内可见虫体及钙化灶;周围肝组织中肝板排列尚整齐,肝细胞肿胀,部分脂肪变性,肝窦扩张;汇管区少量纤维增生伴炎细胞浸润。特殊染色:过碘酸雪夫(PAS)显示条带状包膜分层。虫体性质不明确。

2 显微镜检查及结果

从囊肿标本中取出囊泡 1 枚,用剪刀将囊壁剪一小口,可

见囊泡内透明液体和灰黄色胶冻样物流出,用吸管吸取少量胶冻样物和透明液体于载玻片上,盖上盖玻片,稍加压,于显微镜下镜检。结果可见类椭圆形或圆形细胞,大小约为 170 μm×120 μm,可见双层清晰的包膜,细胞中充满液体和颗粒状物质,细胞偏中央处可见椭圆形吸盘,吸盘四周向中央伸出 10 多根小钩,见图 2。根据囊肿性质和显微镜所见该类细胞为细粒棘球绦虫棘球蚴原头节。

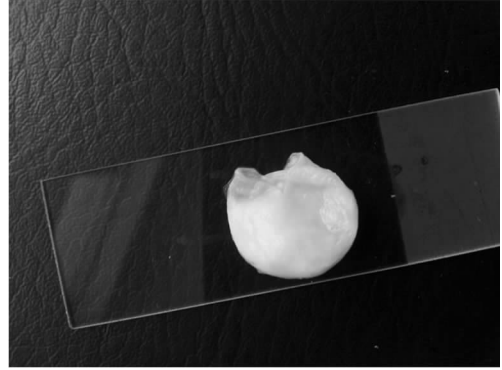


图 1 囊泡

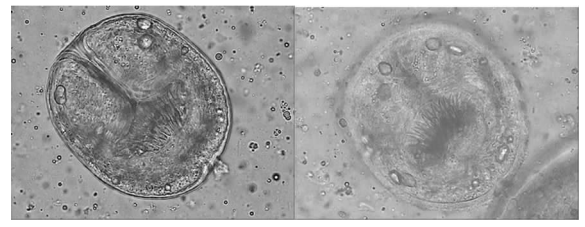


图 2 棘球蚴原头节(10×100)