

• 论 著 •

免疫固定电泳分型技术在 M 蛋白相关疾病诊断中的应用

杨 辛, 林 洁, 吴颖稚, 张庆五

(上海市杨浦区控江医院检验科, 上海 200093)

摘要:目的 探讨免疫固定分型技术在 M 蛋白相关疾病诊断中的应用价值。方法 采用免疫球蛋白定量、血清及尿蛋白电泳、血清及尿本周蛋白免疫固定电泳及其他试验,对 2 例患者标本进行检测和确认。**结果** 结合实验室检测及患者临床体征,1 例患者确诊为血清单克隆 IgA- κ 轻链型多发性骨髓瘤,1 例患者确诊为血清 IgM- λ 型巨球蛋白血症。**结论** 随着电泳技术发展,免疫固定电泳分型技术在 M 蛋白鉴定中具有较高的特异性和敏感性,应加强其临床应用。

关键词:多发型骨髓瘤; 巨球蛋白血症; 重链型; 轻链型; 免疫固定电泳; 琼脂糖凝胶电泳; 免疫球蛋白定量; 冷球蛋白; M 蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.21.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)21-3128-03

Application of immunofixation electrophoresis typing in the diagnosis of M protein related diseases

Yang Xin, Lin Jie, Wu Yingzhi, Zhang Qingwu

(Department of Clinical Laboratory, Kongjiang Hospital of Yangpu District, Shanghai 200093, China)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value of immunofixation electrophoresis typing techniques in M protein related diseases. **Methods** Specimens of patients were simultaneously tested and identified by quantitative detection of immunoglobulins, immunofixation electrophoresis, and other detections. **Results** Light chain multiple myeloma of IgA- κ monoclonal type was identified in one patient. Macroglobulinemia of IgM- λ type was identified in the other patient. **Conclusion** With the development of electrophoresis techniques, immunofixation electrophoresis technique could be with high sensitivity and specificity in identifying M protein, which should be widely applied in clinic.

Key words: multiple myeloma; macroglobulinemia; heavy chain; light chain; immunofixation electrophoresis; agarose gel electrophoresis; quantitative analysis of immunoglobulins; cryoglobulin; M protein

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,其本质是免疫球蛋白或免疫球蛋白的片段,多见于多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症及恶性淋巴瘤患者。本院收治的 2 例患者经血清蛋白电泳检测检出 M 蛋白,经进一步试验最终确诊 1 例为单克隆 IgA- κ 轻链型多发性骨髓瘤,1 例为巨球蛋白血症。现将 2 例患者固定电泳分型技术 M 蛋白检测结果及相关临床意义分析如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2 例患者晨起尿液及空腹静脉血标本,静脉血标本常规方法分离血清,避免溶血和脂血。

1.2 方法 蛋白固定电泳采用法国 Sebia 公司 HYDRAY 型半自动电泳仪及配套试剂。血清免疫固定电泳:将患者血清标本稀释后,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;蛋白质分离后分别加固定液 8 μ L,再加入 IgG、IgA、IgM、 κ 链、 λ 链抗血清各 8 μ L,25 $^{\circ}$ C 孵育 5 min,用厚滤纸覆盖于凝胶片上,吸去凝胶片表面的固定液和水分,65 $^{\circ}$ C 烘干 6 min;将烘干的凝胶片置于染色缸内,结晶紫染色液

染色,用 0.5% 枸橼酸脱色液脱色以除去剩余染料;烘干胶片,扫描并观察结果。本周蛋白尿液免疫固定电泳:将患者尿液标本 10 μ L 加入加样梳小孔内,用 pH8.8 琼脂糖膜片进行电泳以分离蛋白质;蛋白质分离后分别加固定液 8 μ L,再加入 κ 链、 λ 链、游离 κ 链、游离 λ 链抗血清各 8 μ L,25 $^{\circ}$ C 孵育 5 min,用厚滤纸覆盖于凝胶片上,吸去凝胶片表面的固定液和水分,65 $^{\circ}$ C 烘干 6 min;将烘干的凝胶片置于染色缸内,结晶紫染色液染色,用 0.5% 枸橼酸脱色液脱色以除去剩余染料;烘干胶片,扫描并观察结果。血清免疫球蛋白定量检测采用德国 Siemens 公司 BN-Prospec 型全自动免疫散射比浊分析及配套试剂,检测原理为免疫散射比浊法。上述试验操作均按仪器及试剂说明书进行。患者其他实验室指标检测结果采集自病历资料。

2 结 果

2.1 蛋白电泳检测结果 2 例患者分别编号为 1 号及 2 号。1~2 号患者血清蛋白电泳扫描图谱见图 1~2,琼脂糖凝胶膜片尿蛋白电泳图谱见图 3,血清琼脂糖凝胶膜片免疫固定电泳图谱见图 4,本周蛋白尿琼脂糖凝胶膜片免疫固定电泳见图 5。

表 1 2 例患者其他实验室指标检测结果

项目	1 号患者	2 号患者	参考范围
白细胞($\times 10^9/L$)	2.9	3.3	4.0~10
红细胞($\times 10^{12}/L$)	3.07	3.35	3.5~5.5

续表 1 2 例患者其他实验室指标检测结果

项目	1 号患者	2 号患者	参考范围
血红蛋白(g/L)	75	94	110~170
血小板($\times 10^9/L$)	79	82	100~300
血细胞沉降率(mm/h)	182	123	0~20(女), 0~15(男)
冷球蛋白定性	阴性	阳性	阴性
凝血酶原时间(s)	11.5	28.6	10~14
活化部分凝血酶原时间(s)	20.5	54.9	20~40 秒
全血黏度	降低(低黏度)	增高(高黏度)	—
血浆黏度	降低(低黏度)	增高(高黏度)	—
尿酸($\mu\text{mol/L}$)	120	180	115~428
尿素氮(mmol/L)	7.2	5.8 \pm	2.5~6.4
肌酐(mmol/L)	160	106	52~115

—:无数据。

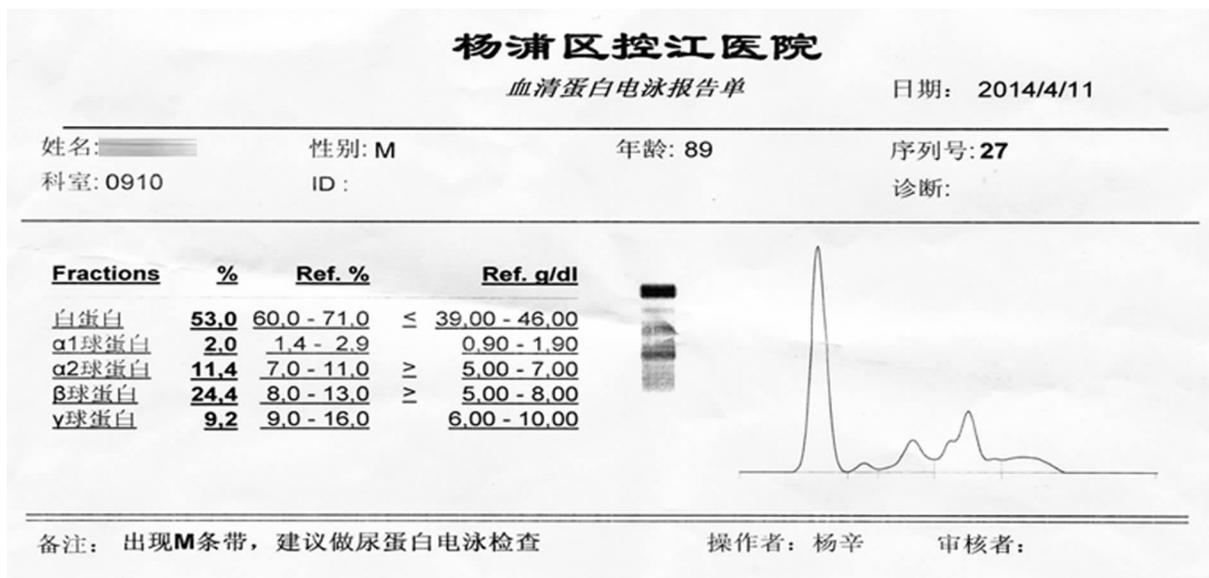


图 1 1 号患者血清蛋白电泳扫描图谱及结果

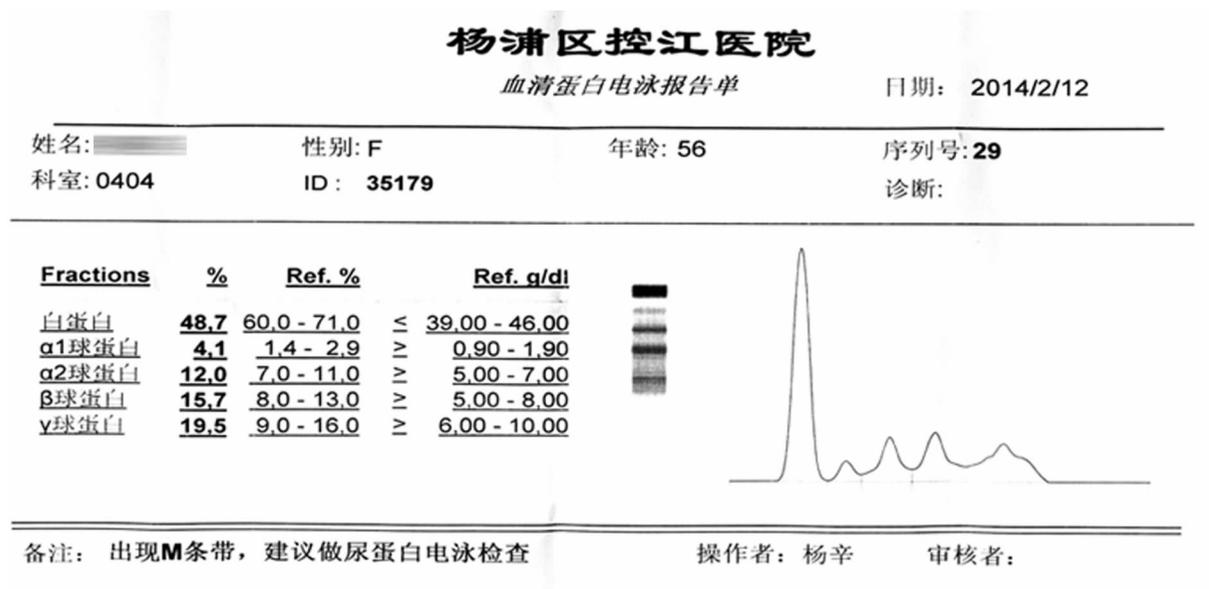


图 2 2 号患者血清蛋白电泳扫描图谱及结果

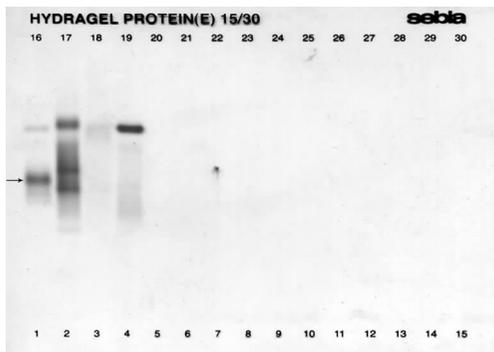


图 3 1 号(1 号泳道)和 2 号(3 号泳道)患者尿液琼脂糖凝胶电泳图谱

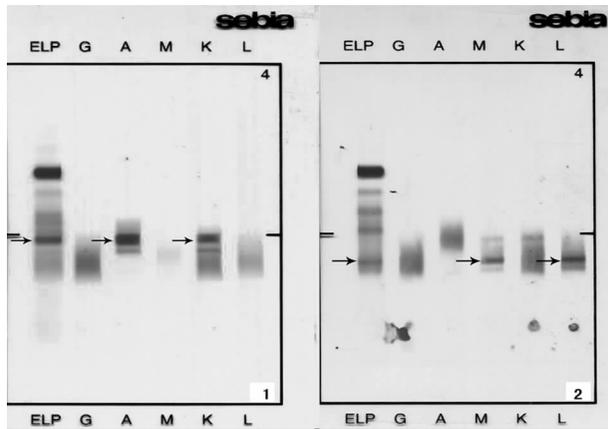


图 4 1 号(1 号位)和 2 号(2 号位)患者血清琼脂糖凝胶免疫固定电泳图谱

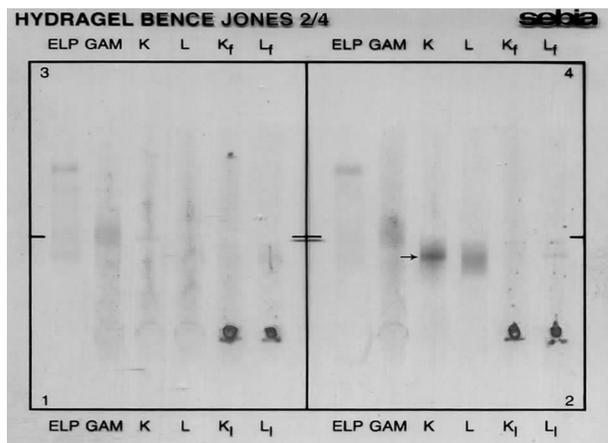


图 5 1 号(2 号位)和 2 号(1 号位)患者尿液本周蛋白琼脂糖凝胶免疫固定电泳图谱

2.2 其他实验室指标检测结果 其他实验室指标检测结果见表 1。

3 讨 论

血清免疫固定电泳技术是在琼脂糖凝胶介质上进行蛋白质电泳分离后,加入蛋白质固定剂、各型免疫球蛋白及其轻链抗血清,若血清中存在相应的抗原,则在对应位置形成抗原-抗体复合物,并沉淀于凝胶介质中,经染色后,抗原-抗体复合物沉淀区带显色,根据显色条带移动距离判断相应的单克隆组分,

从而对各类免疫球蛋白及其轻链进行分型。血清免疫固定电泳技术可用于 M 蛋白的型、亚型和轻链型,以及本周蛋白和游离轻链的分型和鉴别^[1-4]。本研究结果显示,2 号患者血清蛋白电泳图谱显示,γ 区出现 1 条 M 带,γ 区相对定量百分比为 19.8%,明显升高,IgM 定量检测结果为 6.2 g/L,明显升高;尿液蛋白电泳无区带现象;血清免疫固定电泳显示 IgM、λ 在 γ 区可见异常浓集区带;尿液本周蛋白免疫固定电泳无区带现象。2 号患者红细胞、白细胞及血小板水平降低,血细胞沉降率升高。血凝指标、全血黏度及血浆黏度检测结果均异常,冷球蛋白为阳性(提示血液中存在大量巨球蛋白)。此外,2 号患者临床体征包括淋巴结肿大,肝脾大,皮疹及反复细菌感染,在冬天易出现雷诺现象。因此,该例患者最终确诊为 IgM-λ 型巨球蛋白血症^[5-8]。1 号患者血清总蛋白、清蛋白水平下降,球蛋白水平上升,清蛋白/球蛋白比例倒置,血清蛋白电泳可见 β 区出现 1 条 M 带,β 区相对定量百分比为 24.9%,明显升高,IgA 定量检测结果也明显升高(大于 7.4 g/L);尿蛋白电泳出现本周蛋白(肾脏排出的免疫球蛋白轻链);血清免疫固定电泳显示 IgA、κ 链在 β 区异常浓集;尿液本周蛋白免疫固定电泳显示 κ 链在 β 区异常浓集。1 号患者血红蛋白、红细胞、白细胞及血小板水平均降低,血涂片镜检可见红细胞呈缙钱状排列,血细胞沉降率、肌酐和尿素氮水平升高。此外,1 号患者临床体征包括贫血貌,头痛,腰背痛,低热及肾损伤症状等。因此,该例患者最终确诊为单克隆 IgA-κ 轻链型多发性骨髓^[1-8]。

对 M 蛋白血症引发的疾病诊断不困难,一般通过血清免疫球蛋白定量、血及尿蛋白电泳、血及尿免疫固定电泳分型、血常规、生化指标、尿液常规、血细胞沉降率及冷球蛋白等的联合检测可确诊,其中最重要的是免疫固定电泳分型检查^[1,4,8]。随着电泳技术的发展,免疫固定电泳分型技术在 M 蛋白鉴定中具有较高的特异性和敏感性,应加强其在临床中的应用。

参考文献

- [1] 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会,中国多发性骨髓瘤工作组. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2013 年修订)[J]. 中华内科杂志,2013,53(9):791-795.
- [2] 刘金英,翟玉华. 免疫固定电泳技术在 M 蛋白免疫分型中的应用[J]. 现代医学检验杂志,2006,21(5):23-24.
- [3] 杨辛,张庆五. 尿蛋白电泳区分生理性和病理性蛋白尿的实验室分析研究[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(5):58-59.
- [4] 魏明竟. 临床检验学[M]. 北京:科学技术文献出版社,2001.
- [5] 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,2007,9(2):32-35.
- [6] 唐秀英,李云春,史青梅. 18 例骨髓瘤肾病患者血清免疫固定电泳的检测及临床分析[J]. 宁夏医科大学学报,2010,32(1):120-122.
- [7] 杨辛,张庆五,吴颖雅. 用琼脂糖凝胶膜片作介质进行非浓缩尿蛋白电泳[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(8):105-106.
- [8] 姜绯. 临床实验室检查结果解读血清蛋白电泳和免疫固定电泳的临床应用[J]. 中国实用乡村医生杂志,2009,12(6):54-56.

(收稿日期:2015-07-18)