

免疫固定电泳对多发性骨髓瘤的诊断价值*

廖君群¹, 杨清秀², 毕小云¹ (1. 重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016;

2. 重庆医科大学, 重庆 400016)

【摘要】 目的 探讨免疫固定电泳(IFE)在多发性骨髓瘤(MM)诊断中的价值。**方法** 采用法国 Sebia 公司生产的 Hydrasys 2 琼脂糖凝胶电泳仪, 对临床上有检测需求的患者血清进行 IFE, 并回顾性分析其相关实验室检查资料。**结果** 155 例患者的血清 IFE 检测结果中, 67 例阳性, 其中经临床诊断证实的 MM 51 例。IFE 对 MM 诊断的灵敏度和特异度分别为 69.9%、80.5%。51 例 IFE 阳性的 MM 患者中, 以免疫球蛋白(Ig)G κ 型和 λ 型为主, 分别占 19.61%、27.45%, 但其余各型均有分布。51 例 IFE 阳性 MM 患者病例资料回顾性分析结果显示, 由于原发疾病被贫血、骨痛等首发症状掩盖, 患者常会就诊于其他科室。**结论** IFE 对 MM 的准确诊断、疗效监测、预后判断具有重要的临床意义。

【关键词】 多发性骨髓瘤; 免疫固定电泳; M 蛋白

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.22.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)22-3092-02

Diagnostic value of immunofixation electrophoresis on multiple myeloma* LIAO Jun-qun¹, YANG Qing-xiu², BI Xi-ao-yun¹ (1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the value of immunofixation electrophoresis(IFE)in the diagnosis of multiple myeloma(MM). **Methods** The Sebia Hydrasys 2 agarose electrophoresis apparatus made by France was adopted to perform IFE on the serum samples in the patients with the clinical IFE detection demand. The related laboratory detection data of these patients were retrospectively analyzed. **Results** Among 155 cases of IFE detection results, 67 cases were positive, in which 51 cases of MM were verified by clinical diagnosis. The sensitivity and specificity of IFE for diagnosing MM were 69.9% and 80.5% respectively. In 51 cases of MM, IgG kappa type and IgG lambda type were predominant, accounting for 19.61% and 27.45%, respectively, but the other types had distribution. The retrospective analysis results of the medical record data in 51 cases of MM and positive IFE showed that the patients often visited to other departments because the primary disease was covered with the initial symptoms such as anemia, bone pain. **Conclusion** IFE has important clinical significance for accurately diagnosing MM, monitoring the curative effect and judging prognosis.

【Key words】 multiple myeloma; immunofixation electrophoresis; M protein

多发性骨髓瘤(MM)是一种骨髓浆细胞恶性增殖性疾病, 又称骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤或 Kahler 病, 它的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(Ig), 以中老年人发病为主。中国 MM 年发病率约为 1/10 万, 占所有恶性肿瘤的 1%, 在恶性血液系统疾病中占 10% 左右, 而目前随着人口老龄化以及检测技术的不断提高, MM 的发病率不断增加^[1]。由于该病起病隐匿, 临床表现复杂多样, 常伴贫血、骨折、感染、肾功能不全等症状, 极易漏诊或误诊, 以致许多患者错过最佳治疗时期。因此, 对 MM 的早期诊断和鉴别显得极其重要。免疫固定电泳(IFE)具有周期短、敏感性高、特异性强和分辨率高的优点, 主要用于 M 蛋白的鉴定以明确诊断 MM。本文收集本院 2011 年 4 月至 2012 年 10 月经 IFE 检测的患者标本, 分析其电泳特征, 旨在探讨其在 MM 临床诊断、鉴别诊断及分型中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 4 月至 2012 年 10 月本院经 IFE 检测的患者 155 例, 年龄 19~90 岁, 平均 60.8 岁。所有病例

均经临床确诊, 其中 MM 患者 73 人, 均符合临床 MM 诊断标准。MM 患者中男 41 例(56.16%), 女 32 例(43.84%); 年龄 42~78 岁, 平均 59.7 岁。73 例 MM 患者中, IFE 检测阳性 51 例。

1.2 仪器与试剂 仪器为法国 Sebia 公司生产的 Hydrasys 2 琼脂糖凝胶电泳仪; 试剂为法国 Sebia 公司生产的 Hydrasys 2 琼脂糖凝胶电泳仪配套试剂。

1.3 方法 采集空腹(8~12 h)静脉血 4 mL, 3 000 r/min 离心 5~10 min。采用 IFE 的方法(包括琼脂糖凝胶蛋白电泳和免疫沉淀两个过程), 对患者血清的 M 蛋白进行分型, 即先对血清蛋白进行电泳分离, 然后应用固定剂和各型 Ig 及其轻链的抗血清, 加入凝胶道, 与对应抗原结合, 从而对各类 Ig 及其轻链进行分型。具体方法: (1)取患者血清用 A、B 稀释液分别按 1:2(血清 30 μ L+稀释液 60 μ L)、1:5(血清 20 μ L+稀释液 100 μ L)倍稀释, 其中 A 液用于血清和 IgA、IgM、 κ 、 λ , B 液用于 IgG; (2)稀释后点样 10 μ L(1、8、15 号位不加, 3、10 号位加 B 液, 其余各孔加 A 液); (3)加抗血清(ELP 加固定液 8 μ L,

* 基金项目: 国家临床重点专科建设项目(财社[2010]305 号)。

作者简介: 廖君群, 女, 本科, 初级检验技师, 主要从事临床化学检验工作。

其余各孔加 8 μ L 抗血清,依次为 IgG、IgA、IgM、 κ 、 λ ; (4)吸液、烘干; (5)染色、脱色、烘干; (6)扫描并观察结果。

1.4 统计学处理 所有数据应用 Microsoft Excel 2003 版进行处理。

2 结 果

2.1 血清 IFE 结果 155 例患者的血清 IFE 检测结果中,67 例阳性,其中 MM 51 例。电泳阳性结果及免疫分型结果见表 1、2,由表 1 可得出 IFE 对 MM 诊断的灵敏度和特异度分别为 69.9%,80.5%。

表 1 155 例患者血清 IFE 四格表分析结果

检测结果	<i>n</i>	阳性	阴性	合计
MM	73	51	22	73
非 MM	82	16	66	82
合计	155	67	88	155

表 2 51 例 MM 患者血清 IFE 分型结果 [*n*(%)]

项目	免疫分型 IgG	IgA	IgM	轻链型	合计
κ	10(19.61)	9(17.65)	—	7(13.73)	26(50.98)
λ	14(27.45)	6(11.76)	1(1.96)	4(7.84)	25(49.02)
$\kappa:\lambda$	1:1.4	1.5:1	—	1.75:1	—
合计	24(47.06)	15(29.41)	1(1.96)	11(21.57)	51(100.00)

注:—表示无数据。

2.2 相关实验室检查结果 73 例 MM 患者相关实验室检查结果见表 3。

表 3 73 例 MM 患者相关实验室检查结果

检验项目		<i>n</i>	异常(<i>n</i>)	百分比(%)
血清总蛋白		73	24	32.88
血红蛋白	90~110 g/L	73	24	32.88
	<90 g/L	73	26	35.62
尿蛋白		60	27	45.00
红细胞沉降率	>20 mm	20	12	60.00
	>100 mm	20	9	45.00
生化肾功能		73	8	11.00
血清 Ca ²⁺		68	3	4.41

表 4 42 例 IFE 阳性患者初诊断及入住科室分布

主要初诊断	入住科室	<i>n</i>	百分比(%)
贫血、头昏乏力	血液科	9	21.3
胸痛、冠心病、心绞痛	心血管科	2	4.8
骨痛、骨折	骨科	10	23.8
色素性紫癜性皮肤病	皮肤科	2	4.8
全身痛、左髋疼痛	镇痛科	2	4.8
腹痛、咯血	消化内科	1	2.4
肾病、肾功不全	肾内科	5	11.9
双下肢麻木	老年科	1	2.4
眩晕、视物旋转	神经内科	1	2.4
间歇性跛行	神经外科	1	2.4
	其他	8	19.0

2.3 51 例 IFE 阳性 MM 患者初诊断及入院科室情况 对 51 例 IFE 阳性 MM 患者病例资料的进行回顾性分析,由于这 51 例 IFE 阳性的 MM 患者中,有 9 例患者入院前已确诊为 MM,无法确定患者初诊断及入住科室,因此只做其余 42 例 MM 患者的初诊断及入住科室分析。见表 4。

3 讨 论

MM 是恶性浆细胞病中最常见的一种类型,是一种进行性的肿瘤性疾病。其特征为骨髓浆细胞瘤和一株完整性的单克隆免疫球蛋白(IgG、IgA、IgD 或 IgE)或 Bence Jones 蛋白质(游离的单克隆性 κ 或 γ 轻链)过度增生。MM 早期症状不明显,有的甚至无自觉症状,当出现症状时,其临床表现也是多种多样,常伴有多发性溶骨性损害、高钙血症、贫血、肾脏损害,而且对细菌性感染的易感性增高,正常 Ig 的生成受抑。但这些异常检查结果缺乏特异性,需要与其他浆细胞疾病和实体瘤骨侵犯鉴别。IFE 是一种免疫沉淀反应的混合技术,将区带电泳和免疫扩散结合起来,是一种灵敏度很高的分离及鉴定 M 蛋白的方法,具有很强的特异性^[2-3]。本文中 IFE 对 MM 诊断的灵敏度和特异度,分别为 69.9%和 80.5%,与临床报道有一定差异^[3],可能与研究病例较少有关。IFE 可对 M 蛋白进行免疫分型,MM 的每一型都有自己的特点,临床可根据分型结果,采取个体化治疗,选择适合患者的治疗方法,以达到缓解病情和治愈疾病的目的。

按照国内 MM 的诊断标准^[4],67 例 IFE 阳性患者中,51 例被确诊为 MM,IFE 的阳性预测值达 76.1%,说明 IFE 阳性患者被诊断为 MM 的可能性很大,但本次阳性预测值低于以往的报道^[5],可能与病例数较少有关。22 例 IFE 阴性的 MM 患者中,大部分患者入院前已被确诊为 MM,经过治疗后,病情有所改善,以致血清中 M 蛋白水平降低;另有少部分患者为低分泌型或未分泌型,因此出现 IFE 检测为阴性的情况。16 例 IFE 阳性的非 MM 患者中,有 2 例巨球蛋白血症,2 例浆细胞病,3 例淋巴系统肿瘤,1 例 POEMS 综合征,这些疾病都会引起血清中 Ig 不同程度的升高,从而造成假阳性的出现。因此,可以通过 IFE 对血清 M 蛋白进行分离及鉴定,对 MM 进行诊断,疗效监测,指导临床治疗。

本研究中,73 例 MM 患者中,男 41 例(56.16%),女 32 例(43.84%),男女患病比例约为 1.28:1,说明男性发病率高于女性。

MM 患者的临床表现多种多样,出现不同程度的贫血、骨痛、蛋白尿、感染、高钙血症、肾功能不全等症状。由于 MM 患者临床表现的多样化,极易被漏诊、误诊。据不同医院的统计资料分析,MM 误诊率可达 54.00%~69.11%^[6],许多 MM 患者因此错过了最佳治疗时期。本研究中初诊为骨痛骨折的有 11 例,肾病、肾功能不全 5 例,冠心病、心绞痛 2 例,贫血待查者 9 例,色素性紫癜性皮肤病 2 例,发热 1 例,其他 12 例。由于原发疾病被掩盖,患者常会就诊于其他科室。因此,对于 40 岁以上的患者,若出现不明原因的腰痛、骨关节痛、病理性骨折、不明原因的蛋白尿、贫血、高钙血症、感染等,均应考虑 MM 的可能^[7]。IFE 结合了蛋白质电泳的高分辨率和抗原抗体反应的特异性,结果判断简易,大大降低了 MM 的误诊率。有报道指出,IFE 可对 MM 患者进行早期诊断^[8],与本研究相符。本研究中,有 2 例初诊断为色素性紫癜性皮肤病,1 例发热患者,骨髓瘤病变还没累及肾脏,还没造成严重的溶骨性损伤,但 IFE 已能对血清 M 蛋白进行检测,对 MM 进行早期诊断,为临床医生提供可靠的诊断依据。 (下转第 3096 页)

AFP 在 BL21(DE3)中的表达主要存在于包涵体中,必须通过变、复性才能获得有免疫原性的目的蛋白,且经纯化得到的 AFP 水平只有 360.2 ng/mL,因此结果没有在本文中列出。此外,原核表达获得的 AFP 与人源 AFP 相比相对分子质量较小,分析其原因可能与其无糖基化和蛋白折叠的差异有关。相较于此,在 GS115 中表达的 AFP 均能分泌到胞外易于目的蛋白的收集,且经硫酸铵的初步纯化后纯度就可达 90%以上,活力是 BL21(DE3)中表达的 AFP 的 10 倍之多。此外,将 GS115 中表达纯化后获得的 AFP 与临床肝癌血清标本进行相对分子质量的比较,发现在 GS115 中异源表达的人源 AFP 相对分子质量与肝癌血清标本相近,其糖基化水平可能相近,但确切的结论还需要进一步的研究论证。

目前,AFP 主要是从啮齿类动物胚胎和人胚胎血清中提取获得,通过此方法获得的 AFP 量少,而通过酵母表达和纯化可获得大量的且具有免疫原性的高纯度 AFP。当前临床 AFP 检测上,仍然呈现外国诊断试剂盒独当一面的趋势,国内相应的体外诊断试剂盒和校准品、质控品还相对空白。本研究可为将来制备体外诊断试剂盒、可溯源的 AFP 校准品、质控品以及更多 AFP 新功能的进一步研究奠定基础。

参考文献

[1] Wang S,Jiang W,Chen X,et al. Alpha-fetoprotein acts as a novel signal molecule and mediates transcription of Fn14 in human hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol,2012,57(2):322-329.
[2] Mizejewskia GJ,Butterstein G. Survey of functional activ-

ities of alpha-fetoprotein derived growth inhibitory peptides;review and prospects[J]. Curr Protein Pept Sci, 2006,7(1):73-100.
[3] Mizejewski GJ. Therapeutic use of human alpha-fetoprotein in clinical patients:is a cancer risk involved[J]. Int J Cancer,2011,128(1):239-242.
[4] 刘继洪. 人甲胎蛋白基因原核克隆和表达[D]. 杭州:浙江大学,2004.
[5] Johnson PJ. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. Clin Liver Dis,2001,5(1):145-159.
[6] Li M,Li H,Li C,et al. Alpha-fetoprotein;a new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines[J]. Int J Cancer,2011,128(3):524-532.
[7] 陈石根,周润琦. 酶学[M]. 上海:复旦大学出版社,2001.
[8] Li M,Li H,Li C,et al. Alpha fetoprotein is a novel protein-binding partner for caspase-3 and blocks the apoptotic signaling pathway in human hepatoma cells[J]. Int J Cancer,2009,124(12):2845-2854.
[9] Li M,Zhou S,Liu X,et al. alpha-Fetoprotein shields hepatocellular carcinoma cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand[J]. Cancer Lett,2007,249(2):227-234.

(收稿日期:2014-02-10 修回日期:2014-04-12)

(上接第 3093 页)

本研究中 51 例 IFE 阳性 MM 患者 IgG 型最常见,与文献[9-10]报道相符,有 24 例,占 47.06%;IgA 型 15 例,占 29.41%;轻链型 11 例,占 21.57%,其中游离轻链 κ 型 7 例,占 13.73%;游离轻链 λ 型 4 例,占 7.84%,而 IgM 型 λ 只有 1 例,占 1.96%。各型别的 $\kappa:\lambda$ 比例不同,IgG 中 $\kappa:\lambda$ 为 1:1.4,IgA 型中 $\kappa:\lambda$ 为 1.5:1,轻链型中 $\kappa:\lambda$ 为 1.75:1。在 16 例 IFE 阳性的非 MM 患者中 IgM 4 例,占 25.00%;IgG 3 例,占 18.75%;IgA 4 例,占 25.00%;游离轻链 λ 型 5 例,占 31.25%。4 例 IgM 为巨球蛋白血症或淋巴系统瘤。在 MM 患者中,IgM 型所占比例很小,因此,当 IFE 检测结果出现 IgM 时,要特别注意 MM 与其他浆细胞病如巨球蛋白血症和淋巴系统瘤的鉴别,减少误诊率。

综上所述,IFE 是一种特异性、灵敏度及准确度很高的能快速分离及鉴别单克隆 M 蛋白的方法。在 MM 的鉴别诊断、指导治疗、疗效监测、预后判断都有重要的临床意义。随着 MM 发病率的提高,临床表现的多样化,IFE 已成为诊断 MM 必不可少的实验室常规检查项目,为临床医生的诊断、治疗提供可靠的依据。另外,还应加强多学科、多领域的合作研究,寻找新的快速准确诊断 MM 的方法,进一步提高对 MM 的诊断正确率。

参考文献

[1] 田永芳,贾海英,田洪燕. 47 例多发性骨髓瘤综合分析[J]. 临床血液学杂志:输血与检验版,2010,23(4):473-474,478.

[2] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:32-234.
[3] 罗琳,罗军,赖颖晖,等. 33 例多发性骨髓瘤患者血清免疫学特征[J]. 临床血液学杂志,2006,19(1):39-40.
[4] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1998:373-380.
[5] 张磊,高秀登,刘树业. 免疫固定电泳在多发性骨髓瘤中的诊断价值[J]. 中国实验诊断学,2011,15(3):517-519.
[6] International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies,multiple myeloma and related disorders;a report of the International Myeloma Working Group[J]. Br J Haematol,2003,121(5):749-757.
[7] 孟秀琴,艾工文. 18 例多发性骨髓瘤临床分析[J]. 临床血液学杂志,2005,18(1):40-41.
[8] 卢娉霞,陈莺,张敬喜. 免疫固定电泳在多发性骨髓瘤免疫分型中的应用[J]. 实验与检验医学,2009,27(3):267-268.
[9] 乔永红,保方,陈莲英,等. 免疫固定电泳技术在多发性骨髓瘤 31 例中的诊断价值[J]. 交通医学,2011,24(5):477-478.
[10] 刘玉梅,黄琳琳,赵有利,等. 296 例血清免疫固定电泳检测结果分析[J]. 微循环学杂志,2012,22(2):45-46.

(收稿日期:2014-02-10 修回日期:2014-04-12)