

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.11.011

4 种检测项目对多发性骨髓瘤诊疗价值的研究

魏 娜¹, 王 剑², 陆 捷^{1△}

华中科技大学同济医学院附属同济医院:1. 检验科;2. 计算机中心, 湖北武汉 430030

摘 要:**目的** 探讨血清免疫固定电泳(IFE)、血清蛋白电泳(SPE)、血清免疫球蛋白(Ig)定量和血清游离轻链检测这 4 种检测项目在多发性骨髓瘤(MM)诊疗中的价值。**方法** 收集 2020 年 6 月至 2021 年 6 月在该院就诊的 MM 患者 235 例设为观察组,同期体检健康者 80 例设为对照组。使用免疫比浊法检测血清 IgG、IgA、IgM 和血清游离轻链,使用琼脂糖凝胶电泳法进行 IFE 和 SPE 检测,记录、观察 IFE 分型以及清蛋白、 α_1 、 α_2 、 β 、 γ 球蛋白和 M 蛋白所占比重,对比两组数据结果。**结果** 在 235 例 MM 患者 IFE 结果中,可见 M 带的有 231 例,检出率为 98.3%(231/235),仅 4 例非分泌型 MM 患者未检出 M 蛋白,同时经 β -巯基乙醇解聚处理后检出 5 例双克隆型 M 蛋白。与对照者相比,IgA 型、IgG 型和游离轻链型 MM 患者血清 IgA、IgG 和 IgM 差异均有统计学意义($P<0.05$)。在 κ 型 M 蛋白的患者中,血清游离 κ 轻链和 κ/λ 均高于对照者($P<0.05$);在 λ 型 M 蛋白的患者中,血清 κ/λ 低于对照者($P<0.05$),血清游离 λ 轻链高于对照者($P<0.05$)。**结论** SPE、IFE、血清 Ig 定量和游离轻链比值对 MM 的临床诊疗价值较高,MM 可先用 SPE 与 Ig 定量实现初步筛查,而后采用 IFE 实现临床诊断与鉴别诊断。在结合型 MM 中,SPE 中 M 蛋白水平的降低可作为疗效监测指标,在游离型 MM 中将游离轻链比值应用于 MM 病情监测,指导临床选择与制订诊疗方案,评估疗效。

关键词: 多发性骨髓瘤; 血清蛋白电泳; 血清免疫固定电泳; 免疫球蛋白定量; 血清游离轻链
中图法分类号: R733.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2022)11-1486-04

Study on value of 4 kinds of detection items in diagnosis and treatment of multiple myeloma

WEI Na¹, WANG Jian², LU Jie^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Computer Center, Affiliated
Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of
Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China

Abstract:**Objective** To explore the clinical value of 4 detection items of serum immunofixed electrophoresis (IFE), serum protein electrophoresis (SPE), serum immunoglobulin (Ig) quantification and free light chain detection in the diagnosis and treatment of multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 235 MM patients admitted to this hospital from June 2020 to June 2021 were collected as the observation group, and 80 healthy subjects undergoing the physical examination during the same period were selected as the control group. The immunoturbidimetry method was used to detect serum immunoglobulin IgG, IgA, IgM and serum free light chain. The agarose gel method was used to conduct the IFE and SPE detection, the IFE typing and the proportions of albumin, α_1 , α_2 , β , γ -globulin and M proteins were recorded and observed. The results of data were compared between the two groups. **Results** In the IFE results of 235 MM patients, there were 231 cases with M-band, the detection rate was 98.3% (231/235), and M protein were not detected only in 4 cases of non-secretory MM. Meanwhile, 5 cases of bisclonal type M proteins were detected after treatment by depolymerization of β -mercaptoethanol. Compared with the control, the difference between serum IgA, IgG and IgM among IgA, IgG type and free light chain type in the patients with MM had statistical significance ($P<0.05$). In the patients with κ type M protein, serum free κ light chain and κ/λ were higher than those in the control ($P<0.05$); in the patients with λ type M protein, serum κ/λ was lower than that in the control ($P<0.05$), and serum free λ light chain was higher than that in the control ($P<0.05$). **Conclusion** SPE, IFE, serum Ig quantitation and ratio of free light chain have higher value in clinical diagnosis and treatment of MM, MM could be quantified with SPE and Ig to achieve preliminary screening, then IFE is adopted to realize clinical diagnosis and differential diagnosis. In the conjunction type MM, the M protein level decrease in SPE could serve

作者简介: 魏娜, 女, 技师, 主要从事骨髓瘤研究。△ 通信作者, E-mail: lujieok0330@163.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220506.1512.020.html> (2022-05-07)

as the monitoring indicator of curative effect. In the free type MM, the ratio of free light chain applied in the monitoring of MM disease condition, which could guide clinic to select and formulate the diagnosis and treatment scheme and evaluate the treatment effect.

Key words: multiple myeloma; serum protein electrophoresis; serum immunofixed electrophoresis; immunoglobulin quantification; serum free light chain

多发性骨髓瘤(MM)是恶性浆细胞瘤中最常见的一种类型,以恶性浆细胞在患者骨髓组织中的克隆性增殖、积聚和对相关终末器官的损害为特征^[1],可分泌大量单克隆免疫球蛋白(Ig)或其片段,而正常多克隆 Ig 分泌、浆细胞的增生受到限制,患者出现贫血、感染、骨质破坏等表现,可累及全身多个系统^[2]。该病中老年人群易发,男性患者略多于女性(男女比例约为 1.4 : 1),男性患者发病中位年龄 69 岁,女性患者发病中位年龄 71 岁,发病率在血液系统肿瘤中仅次于淋巴瘤,目前无法治愈^[3-4]。随着新型蛋白酶体抑制剂、新型免疫调节剂、造血干细胞移植、单克隆抗体及嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法的应用,MM 患者生存率明显提高。由于 MM 发病率逐年增高,临床表现多种多样,故早期诊断对该病的后期治疗、预后具有重要意义。本研究总结了 4 种检测方法对 MM 的诊疗价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2020 年 6 月至 2021 年 6 月收治的 235 例 MM 患者作为观察组,患者均符合《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020 年修订)》^[5] 诊断标准,并经病理诊断确诊。其中男 141 例,女 94 例;年龄 35~91 岁,平均(60.09±9.34)岁。选取同期 80 例体检健康者作为对照组,其中男 50 例、女 30 例,平均年龄(59.52±8.12)岁。两组在年龄、性别等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 使用美国 Beckman 公司 IM-MAGE800 特种蛋白分析仪及配套试剂检测 IgG、IgA、IgM;血清游离 κ 和血清游离 λ 轻链定量采用 Roche Cobas8000 自动生化分析仪(德国罗氏公司)进行检测,其配套试剂使用 The Binding Site Group Ltd 产品;血清免疫固定电泳(IFE)、血清蛋白电泳(SPE)的检测使用法国 Sebia Hydrasys 2 型琼脂糖凝胶电泳分析仪。

1.3 方法 采集受检者 5 mL 静脉血,离心取上清液,采用免疫比浊法检测 IgG、IgA、IgM 以及血清游离 κ 轻链和血清游离 λ 轻链。IFE:将血清标本加样、电泳、固定、洗脱和染色,扫描并分析结果。出现均一、深染的沉淀带即为 M 带。SPE:使用琼脂糖凝胶电泳法进行检测,获得良好的分离效果后将蛋白分离成清蛋白、 α_1 、 α_2 、 β 、 γ 球蛋白和 M 蛋白,光密度扫描得到各蛋白百分含量。

1.4 统计学处理 利用 Excel2013 软件对两组研究

对象的信息进行整理,应用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析。计量资料经正态性检验,符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种电泳方法 M 蛋白的检出情况 SPE 中 M 蛋白检出率为 89.36%,而 IFE 中 M 蛋白检出率为 98.3%。见表 1。

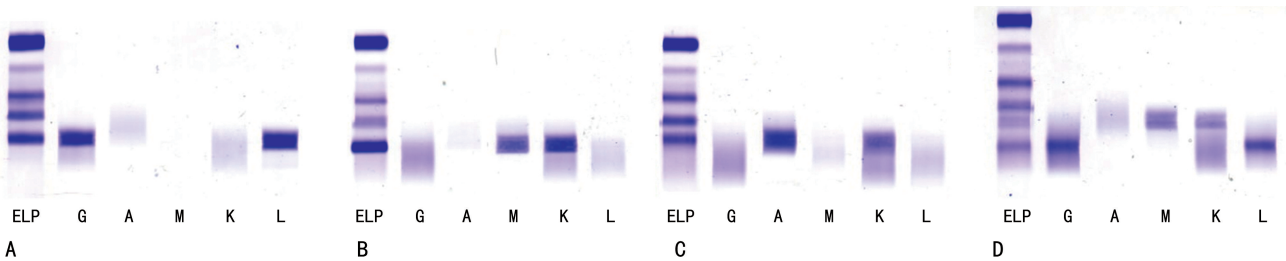
表 1 两种电泳方法 M 蛋白的检出率比较				
电泳方式	<i>n</i>	M 蛋白阳性(<i>n</i>)	M 蛋白阴性(<i>n</i>)	检出率(%)
IFE	235	231	4	98.30
SPE	235	210	25	89.36

2.2 MM 患者 IFE 的免疫分型结果 235 例 MM 患者 IFE 可见 M 带的有 231 例,4 例非分泌型 MM 未检出 M 蛋白。由表 2 可见,患者的 M 蛋白以 IgG 型最多(44.26%),IgA 型和轻链型次之(分别为 23.83%和 17.45%),IgM 型较少见(1.70%)。本次试验发现 5 例双克隆型,1 例重链型,但未发现 IgE 型,IgM 型 M 蛋白因检出例数过少,本研究不纳入比较。电泳结果显示,可见条带分布宽且分离良好的 M 带,见图 1。

表 2 235 例 MM 患者的 IFE 免疫分型结果				
免疫分型	<i>n</i>	构成比(%)	κ 型[<i>n</i> (%)]	λ 型[<i>n</i> (%)]
非分泌型	4	1.70	—	—
M 蛋白阳性	231	98.30	—	—
IgA 型	56	23.83	28(11.91)	28(11.91)
IgG 型	104	44.26	54(22.98)	50(21.28)
IgM 型	4	1.70	4(1.70)	—
轻链型	41	17.45	18(7.66)	23(9.79)
IgD 型	20	8.51	1(0.43)	19(8.08)
双克隆型	5	2.13	—	—
重链型	1	0.43	—	—

注:—表示无数据。

2.3 Ig 定量及游离轻链比值的测定 IgA 型、IgG 型和游离轻链型 MM 患者中,血清 IgA、IgG 和 IgM 均出现相应变化,与对照者相比,差异均有统计学意义($P<0.05$)。在 κ 型 M 蛋白的患者中,血清游离 κ 轻链和 κ/λ 均高于对照者($P<0.05$);在 λ 型 M 蛋白的患者中,血清 κ/λ 低于对照者($P<0.05$),血清游离 λ 轻链高于对照者($P<0.05$)。见表 3。



注: A 为 IgG-λ 型; B 为 IgM-κ 型; C 为 IgA-κ 型; D 为 IgG-λ 型伴 IgM-κ 型; ELP 为对照泳道; 标有 G、A、M、K、L 字母的泳道是分别加用抗 IgG、IgA、IgM 重链和抗 κ、λ 轻链抗体的泳道。

图 1 MM 患者 IFE 图谱

表 3 MM 患者和对照者轻链 κ、λ 水平和血清 Ig 定量测定($\bar{x} \pm s$)

项目	对照者	IgA 型		IgG 型		轻链型	
		κ 型	λ 型	κ 型	λ 型	κ 型	λ 型
游离 κ 轻链(g/L)	15.52±7.24	140.32±50.05*	16.81±7.35	161.84±46.46*	16.53±6.94	330.87±114.66*	11.55±3.79
游离 λ 轻链(g/L)	15.30±6.48	9.73±3.77*	200.37±70.80*	12.52±3.40*	241.22±75.86*	10.29±4.05*	379.50±107.69*
κ/λ	1.02±0.23	16.88±7.99*	0.22±0.08*	25.22±5.83*	0.18±0.06*	41.72±14.41*	0.04±0.01*
IgG(g/L)	12.09±2.97	3.74±1.63*	6.49±3.01*	45.92±12.19*	31.40±12.09*	5.03±1.67*	6.66±2.26*
IgA(g/L)	2.48±1.26	37.26±16.75*	21.40±9.79*	0.56±0.18*	0.45±0.18*	0.46±0.14*	0.68±0.22*
IgM(g/L)	1.06±0.39	0.22±0.07*	0.39±0.13*	0.41±0.16*	0.68±0.22*	0.22±0.08*	0.40±0.18*

注: 与对照者比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨 论

MM 发病年龄呈年轻化趋势, 病情进展缓慢, 早期大多表现为骨痛、贫血、红细胞沉降率增快等多种不典型临床表现, 且骨髓细胞形态学检查很难将其与浆细胞白血病区分开来, Ig 的增加也不能将其与诸如巨球蛋白血症等疾病区分开来。相关研究报道, MM 患者临床误诊率可达 50%^[6]。因此, 对 MM 的早期、准确诊断具有非常重要的意义。

SPE 属于蛋白质分离最为简便的方式之一, 同时也可以获得血清蛋白的整体图谱, 对于血清中异常蛋白质(α 至 γ 球蛋白区间出现 M 条带)的筛选效果十分突出^[7]。但是 SPE 对于 M 蛋白与 α 或 β 区带重合无法检出, 通过 SPE 难以分辨 β 球蛋白区与 γ 球蛋白区出现的急性时相反应蛋白或脂蛋白急剧增加时所引起的峰型^[8], 需要联合 IFE 做进一步筛查。另外, 在非分泌型 MM 患者中由于血清中不产生单一的异常 Ig, 在 SPE 中未出现 M 蛋白峰, 而轻链型中由于 M 蛋白含量低, 部分蛋白电泳 M 带也不明显, 容易漏诊, 此时则需要通过 IFE 进行确认。

另外, 轻链型、不常见型或非分泌型 MM 患者的血清球蛋白水平并不会增高, 需要通过检测 Ig 的血清蛋白水平进一步明确 MM 免疫类型^[9], 非分泌型 MM 患者还需要结合病情进行判断, 必要时需进行骨髓穿刺确认。

临床上通过 IgM 型 M 蛋白检测, 检出的淋巴瘤或者巨球蛋白血症患者较多, 而 MM 患者较少。定量检测血清 Ig 可以更加了解 M 蛋白的数量及具体类型, 但 MM 患者普遍存在免疫功能障碍, 单克隆 Ig 逐渐成为优势蛋白时, 正常 Ig 水平会降低。只是单单依靠 Ig 定量检测并不能准确诊断 MM, 还需要进一

步行 IFE。

IFE 是由抗原-抗体反应与电泳技术相结合的分析技术, 结合单克隆抗体的高敏感性、高特异性以及蛋白质电泳的高分辨率分离技术, 具有分辨率好、敏感性高、特异性高、可直接判读等优点, 是目前主要应用于鉴别 M 蛋白的方法之一^[10]。需要注意的是: 某些单克隆蛋白质可能因多聚体形成而导致所有的免疫固定泳道上均出现单克隆片段。这种情况下需准备 1% β-巯基乙醇, 加 25 μL 还原剂于 75 μL 血清中, 混匀并放置至少 15 min(至多 3 h)。

MM 患者常常出现单克隆浆细胞异常增生并且分泌大量的单克隆 Ig(M 蛋白), 同时产生大量过剩的游离轻链, 从肿瘤性浆细胞中排到血清中, 从而使正常的 Ig 生成受到抑制^[11]。单克隆成分占据绝对优势而正常 Ig 水平降低是 MM 的 M 蛋白特点之一。因此, 在日常检测工作中, 遇到某一种 Ig 水平升高而其他 Ig 水平降低, 如 IgG 定量结果升高而 IgA、IgM 定量结果降低或低于检测下限时, 应及时与临床沟通并建议送检 IFE 来进一步排查。

Ig 定量使用的是免疫比浊法, 当抗原过剩时会造成钩状效应, Ig 水平并未升高, 从而导致部分样本漏检, 这时就需要进一步采用 IFE 筛查。如果标本在起始稀释度条件下抗原过量, 应在更高稀释度条件下重新检测, 进而得到更加符合电泳模式的结果。

血清游离轻链检测则可以减少电泳技术对不分泌型多发性骨髓瘤(NSMM)的漏检。国外的研究也显示, 经过干细胞移植前的 MM 患者, 其血清中的游离轻链比值与早期疾病的进展有关, 血清游离轻链水平的降低也可以预测干细胞移植后的良好结局^[12]。目前, 血清游离轻链 κ/λ 已成为 MM 部分缓解或完全

缓解的判断标准之一,是预测 MM 患者预后的独立危险因素^[13]。

综上所述,SPE、IFE、血清 Ig 定量和游离轻链比值对 MM 的临床诊疗价值较高,可先用 Ig 定量与 SPE 实现初步筛查,而后使用 IFE 技术实现临床诊断及鉴别诊断。在结合型 MM 中,SPE 中 M 蛋白水平的降低可作为疗效监测指标,而在游离型 MM 中可将游离轻链的比值应用于监测 MM 的病情变化,指导临床选择与制订诊疗方案,评估疗效。因此,这 4 种项目联合检测可以更好地为临床诊断和疗效评估提供参考。

参考文献

[1] RAJKUMAR S V,DIMOPOULOS M A,PALUMBOA, et al. International myeloma working group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma[J]. *Lancet oncol*,2014,15(12):e538-e548.

[2] 于晓晨,苏薇,庄俊玲. 重轻链检测在多发性骨髓瘤疗效评价中的意义[J]. *中华血液学杂志*,2018,39(4):281-285.

[3] 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会,中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2017 年修订)[J]. *中华内科杂志*,2017,56(11):866-870.

[4] 杨珮钰,刘蒙蒙,樊红琼,等. 105 例初诊多发性骨髓瘤患者微小残留病的动态监测及其预后价值[J]. *中华血液学杂志*,2019,40(7):584-588.

[5] 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会,中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020 年修订)[J]. *中华内科杂志*,2020,59

(5):341-346.

[6] 钟益芳,饶海英,戴数. 免疫固定电泳在诊断多发性骨髓瘤中的作用[J]. *中国微生态学杂志*,2017,29(5):570-573.

[7] 陈浩宇,叶润清,吴晓蔓,等. 免疫固定电泳和免疫球蛋白含量在多发性骨髓瘤诊断中价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*,2016,30(8):795-797.

[8] 冉学兵. 免疫固定电泳对诊断多发性骨髓瘤的临床价值[J]. *临床医学研究与实践*,2017,2(2):87-88.

[9] 汪薇. 多发性骨髓瘤实验室检查特点[J]. *检验医学*,2015,30(8):847-851.

[10] 严湘红. 免疫固定电泳技术及临床应用进展[J]. *医学临床研究*,2018,35(4):713-715.

[11] MAILANKODY S,MENA E,YUAN C M,et al. Molecular and biologic markers of progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance to multiple myeloma[J]. *Leuk Lymphoma*,2010,51(12):2159-2170.

[12] OZKURT Z N,SUCAK G T,AKI S Z,et al. Early prognostic value of monitoring serum free light chain in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation[J]. *Cancer Invest*,2017,35(3):195-201.

[13] LUDWIG H,MILOSAVLJEVIC D,ZOJER N,et al. Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients[J]. *Leukemia*,2013,27(1):213-219.

(收稿日期:2021-11-06 修回日期:2022-03-16)

(上接第 1485 页)

[7] NICHOLE S,KATIE G. Midostaurin for the management of FLT3-mutated acute myeloid leukemia and advanced systemic mastocytosis[J]. *Am J Health Syst Pharm*,2019,76:268-274.

[8] 刘彦,克晓燕,王晶,等. 伴 FLT3-ITD 突变的急性髓系白血病的临床特征和预后[J]. *中国实验血液学杂志*,2018,26(2):354-358.

[9] WU X,FENG X,ZHAO X,et al. Prognostic significance of FLT3-ITD in pediatric acute myeloid leukemia: a meta-analysis of cohort studies[J]. *Mol Cell Biochem*,2016,420(1/2):121-128.

[10] GU X,EBRAHEM Q,MAHFOUZ R Z,et al. Leukemogenic nucleophosmin mutation disrupts the transcription factor hub that regulates granulomonocytic fates[J]. *J Clin Invest*,2018,128(10):4260-4279.

[11] RASTOGI P,NASEEM S,VARMA N,et al. Nucleophosmin mutation in de-novo acute myeloid leukemia[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*,2016,12(1):77-85.

[12] XU L H,FANG J P,LIU Y C,et al. Nucleophosmin mutations confer an independent favorable prognostic impact in 869 pediatric patients with acute myeloid leukemia[J]. *Blood Cancer J*,2020,10(1):1.

[13] HOU H A,TIEN H F. Mutations in epigenetic modifiers in acute myeloid leukemia and their clinical utility[J]. *Expert Rev Hematol*,2016,9(5):447-469.

[14] 王楠. 急性髓系白血病(非 M3 型)异常基因的检测及临床价值[D]. 新乡:新乡医学院,2020.

[15] KIM S J,ZHAO H,HARDIKAR S,et al. A DNMT3A mutation common in AML exhibits dominant-negative effects in murine ES cells[J]. *Blood*,2013,122(25):4086-4089.

[16] SASAKI K,KANAGAL-SHAMANNA R,MONTALBAN-BRAVO G,et al. Impact of the variant allele frequency of ASXL1, DNMT3A, JAK2, TET2, TP53, and NPM1 on the outcomes of patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia[J]. *Cancer*,2020,126(4):765-774.

(收稿日期:2021-09-16 修回日期:2022-03-12)