

• 论 著 •

免疫球蛋白定量检测及蛋白电泳在少见型多发性骨髓瘤诊断中的应用

肖明锋, 刘基铎, 袁 晴, 刘光平

(广州中医药大学第一附属医院检验科, 广州 510405)

摘要:目的 探讨免疫球蛋白定量检测、血清蛋白电泳及免疫固定电泳在少见型多发性骨髓瘤(MM)诊断中的应用及诊断价值。方法 收集 2014~2015 年该院 31 例少见型 MM 瘤患者, 其中 λ 轻链型 22 例, κ 轻链型 7 例, λ 轻链及 IgD λ 双克隆型 2 例。空腹采集静脉血 3 mL, 分离血清, 检测免疫球蛋白定量、血清蛋白电泳及免疫固定电泳, 评价其在少见型 MM 中的诊断价值。结果 血清蛋白电泳检测到 M 蛋白的阳性率 29.03%, Durie-Salmon 分期临床 II 期与 III 期 M 蛋白水平比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 少见型 MM 与 IgG κ 型的 IgG 及 IgM 比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 与 IgA κ 型的 IgA 及 IgM 比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 免疫球蛋白定量和免疫固定电泳可作为少见型 MM 患者 M 蛋白的筛查方法, 血清蛋白电泳则可对 MM 患者的临床分期和疗效起到指导价值。

关键词:免疫球蛋白定量; 血清蛋白电泳; 免疫固定电泳; 少见型多发性骨髓瘤; 诊治价值

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.15.020 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)15-2126-03

Application of immunoglobulin quantitative detection and protein electrophoresis
in diagnosis of rare type of multiple myeloma

XIAO Mingfeng, LIU Jiduo, YUAN Qing, LIU Guangping

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional
Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China)

Abstract: **Objective** To explore the application and diagnostic value of immunoglobulin quantitative detection, serum protein electrophoresis and immunofixation electrophoresis in diagnosing rare types of multiple myeloma (MM). **Methods** Thirty-one patients with rare types of MM in our hospital during 2014–2015 were collected, including 22 cases of λ light chain type, 7 cases of κ light chain type and 2 cases of λ light chain and IgD λ biclonal type. The fasting venous blood 3 mL was collected and separated for obtaining serum. The immunoglobulin quantitative detection, serum protein electrophoresis and immunofixation were performed and their diagnostic value in rare types of MM was evaluated. **Results** The positive rate of M protein detected by serum protein electrophoresis was 29.03%, the M protein content had statistical difference between the Durie-Salmon clinical stage II and III ($P < 0.05$); IgG and IgM had statistical difference between the rare types of MM and IgG κ ($P < 0.05$); IgA and IgM had statistical difference between MM and IgA κ type ($P < 0.05$). **Conclusion** The immunoglobulin quantitative detection and immunofixation can serve as the screening method for M protein in rare types of MM and serum electrophoresis can play the guidance value for the clinical staging and curative effect.

Key words: quantitative immunoglobulin; serum protein electrophoresis; immunofixation electrophoresis; rare type of multiple myeloma; value of diagnosis and treatment

多发性骨髓瘤(MM)是浆细胞异常增生导致的恶性肿瘤, 约占血液系统恶性疾病的 10%^[1]。MM 以单克隆免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM、IgD 或 IgE)或游离的单克隆性轻链(κ 或 λ)过度增生为主要特征。MM 的临床诊断标准^[2]为 M 蛋白阳性、骨髓中浆细胞大于 15% 并有原浆或幼浆细胞。免疫球蛋白定量、血清蛋白及免疫固定电泳是临床上检测 M 蛋白的重要手段^[3]。临床上将 MM 分为 8 种类型^[4-5], 其中轻链型及 IgD、IgE 类型的 MM 患者, 由于 M 蛋白水平相对较低, 常规方法检测相对不敏感及繁琐等原因, 给临床的诊断带来一定的困难。本研究通过对本院 2014~2015 年 31 例轻链型及 IgD 型的 MM 患者进行回顾性分析, 探讨免疫球蛋白定量检测、血清蛋白及免疫固定电泳在其诊断中的应用, 评价其在 MM 中的诊治价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014~2015 年本院 31 例轻链型及 IgD 型的 MM 患者, 其中 λ 轻链型 22 例, κ 轻链型 7 例, λ 轻链及

IgD λ 双克隆型 2 例; 对照组 40 例, IgA κ 及 IgG κ 型 MM 患者各 20 例, 所有病例均符合目前国内诊断标准^[6]。按 Durie-Salmon 分期标准对 31 例少见型进行 MM 患者临床分期, I 期 4 例, II 期 10 例, III 期 17 例。空腹采集静脉血 3 mL, 分离血清检测。

1.2 仪器与试剂 全自动毛细管电泳采用法国 Sebia 公司生产的 CAPILLARYS2 全自动毛细管电泳仪及其配套试剂盒; 琼脂糖凝胶电泳采用法国 Sebia 公司生产的 Hydras 全自动电泳分析仪和配套试剂; 免疫球蛋白定量(IgG、IgA、IgM、IgE)检测采用贝克曼-库尔特公司 IMAAGE 800 仪器及配套试剂检测。

1.3 方法

1.3.1 全自动毛细管电泳 按照仪器操作说明书进行, 标本不需洗涤和溶血, 直接将标本置试管架, 血清蛋白电泳把检测架送入 CAPILLARYS2 全自动毛细管电泳仪进行电泳检测, 免疫固定电泳加抗体试剂后进行电泳检测, 全部检测程序完

毕,查看结果。

1.3.2 琼脂糖凝胶电泳 对于全自动毛细管电泳可疑结果及只见单轻链条带结果,需进行琼脂糖凝胶电泳复查。首先对患者血清样本进行稀释,各取 10 μL 加入加样梳内,保湿 5 min 后电泳,在电泳同时装好加样模板,加入抗血清(依次为 ELP, IgG, IgA, IgM, Igκ, Igλ) 各 10 μL,电泳结束后进行免疫固定程序约 5 min 左右,吸取多余抗血清,染色,染色完毕后扫描发出报告。如结果只见单轻链条带,必须加做 IgD 及 IgE 抗体,步骤同上。

1.3.3 免疫球蛋白定量检测 分离血清,采用贝克曼-库尔特公司 IMAAGE 800 仪器及配套试剂检测,按照仪器操作说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;多组间比较采用方差分析;计数资料用 χ^2 检验进行统计学分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清蛋白电泳结果 31 例少见型 MM 患者中,血清蛋白电泳检测到 M 蛋白的有 9 例,阳性率为 29.03%。其中 λ 轻链型 7 例,κ 轻链型 1 例,λ 轻链及 IgD λ 双克隆型 1 例,阳性率分别为 31.82%,14.29%,50.00%;Durie-Salmon 分期Ⅱ期 2 例,Ⅲ期 7 例,阳性率分别为 20.00%,41.18%,而血清蛋白电泳检测 IgA κ 及 IgG κ 型的阳性率分别为 90.00% 及 100.00%。Ⅱ期与Ⅲ期 M 蛋白水平比较[(7.05 ± 0.07)% vs. (13.29 ± 5.00)%],差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 免疫固定电泳结果 31 例少见型 MM 患者中,2 例双克隆型需用琼脂糖凝胶电泳法进行复查,其余 29 例轻链型可通过毛细管电泳法直接检测到。而 IgA κ 及 IgG κ 型均通过毛细管电泳法直接检测到,不需琼脂糖凝胶电泳法进行复查。

2.3 免疫球蛋白定量结果 少见型与 IgG κ 型的 IgG 及 IgM 比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);与 IgA κ 型的 IgA 及 IgM 比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。2 种轻链型的免疫球蛋白定量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1 免疫球蛋白定量结果比较($\bar{x} \pm s$)				
分型	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	IgE(ng/mL)
少见类型	5.87 ± 2.77	0.39 ± 0.29	0.22 ± 0.13	59.53 ± 176.07
IgA κ	6.05 ± 2.46	18.01 ± 24.23*	0.41 ± 0.26*	310.00 ± 621.20
IgG κ	29.76 ± 25.39*	0.78 ± 0.87	0.41 ± 0.28*	91.83 ± 129.43

注:与少见类型相比,* $P < 0.05$ 。

表 2 2 种轻链型免疫球蛋白定量结果比较($\bar{x} \pm s$)				
分型	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	IgE(ng/mL)
κ 轻链型	7.58 ± 3.13	0.63 ± 0.35	0.26 ± 0.17	36.40 ± 9.86
λ 轻链型	5.07 ± 1.87	0.31 ± 0.22	0.19 ± 0.11	69.33 ± 194.52
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨 论

MM 是骨髓中浆细胞异常增生的恶性肿瘤,这种恶性增生的单株浆细胞可产生大量单克隆免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM、IgE 或 IgD),或轻链蛋白(κ 或 λ),称为 M 蛋白。根据 M 蛋白可对 MM 进行分型,其中轻链型约占 10.00%^[7],IgD 约

占 2%^[8]。MM 临床表现复杂多样,无明显特异性,大多数 MM 的患者以骨病、肾病、肝病等继发病就诊,较易造成临床的漏诊、误诊,而少见类型的 MM 患者,由于 M 蛋白含量较低,更易漏诊,从而延误患者的诊治。

目前,临床上检测 M 蛋白的方法主要有免疫球蛋白定量、血清蛋白电泳和免疫固定电泳。血清蛋白电泳是分离蛋白质最简单的方法之一,可以获得有关血浆蛋白质全貌的图谱,并对血清中异常蛋白质进行筛选^[9],是早期筛查 MM 的较敏感方法。但血清蛋白电泳对于 M 蛋白的筛查由于其敏感度不高而容易漏诊^[10],特别是对于血清中低含量的游离轻链型 M 蛋白,与研究的 31 例少见型 MM 患者血清蛋白电泳阳性率仅 29.03% 符合。实验中发现,M 带主要出现在 Durie-Salmon 分期Ⅱ期Ⅲ期的患者,且Ⅲ期患者的 M 蛋白水平与Ⅱ期相比有显著性增加,因此血清蛋白电泳不能作为少见型 MM 患者 M 蛋白的筛查方法,但对 MM 患者的临床分期和疗效有指导价值。免疫固定电泳敏感度高,特异性好,是 M 蛋白定性的参考方法,能检测出非常少的单克隆成分,用于疾病的早期诊断效果好,广泛用于 MM 的分型诊断^[11]。尽管其可作为 M 蛋白检测的首选方法,但对于免疫固定毛细管电泳图上出现的 M 带,还不能作出准确的分型,因为其有可能是游离轻链型的 M 蛋白,也不能排除是结合在 IgD 或 IgE 型 M 蛋白的轻链,对本研究的 31 例免疫固定毛细管电泳图上出现单轻链 M 带的患者用琼脂糖的方法进行复查,发现 2 例结合在 IgD 型上的轻链。因此免疫固定电泳可作为少见型 MM 患者 M 蛋白的筛查方法,但只出现轻链 M 带时,必须结合抗 IgD、IgE 血清利用琼脂糖凝胶电泳技术对其进一步鉴定分型,提高临床对于该型的诊断水平,防止误诊,延误病情。

免疫球蛋白定量对 M 蛋白的鉴定是 MM 患者实验室诊断的重要检测方法,其单一的免疫球蛋白增殖经常可定量检测到,因此,MM 患者血清多出现一种类型的重链和轻链的免疫球蛋白升高,而其他各类重、轻链则降低或明显减低。本研究中,少见型 MM 的 IgG、IgM 均值比 IgG 型 MM 的 IgG、IgM 均值降低,两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);而两者的 IgA、IgE 均值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。少见类型 MM 的 IgA、IgM 均值比 IgA 型 MM 的 IgA、IgM 均值降低,两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);而两者的 IgG、IgE 均值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。轻链型 MM 由于瘤细胞产生重链的能力被选择性抑制只能合成轻链,不能合成完整的免疫球蛋白,因而 IgG、IgA、IgM 均降低,因此轻链型 MM 患者容易继发感染,感染率在 MM 中是最高的^[12]。IgD 型 MM 较其他型少见,且健康人血清 IgD 水平极低,即使 IgD 型 MM 血清中 IgD 水平成倍增长但其水平仍可能偏低,常规的免疫球蛋白定量只针对 IgG、IgA、IgM 的检测,不能满足对 MM 进行完整分型,而其他重链的合成能力又被抑制,容易造成误诊为轻链型。因此,对于免疫球蛋白定量 IgG、IgA、IgM 都降低的患者要特别注意,必须结合抗 IgD、IgE 血清进一步鉴定分型,防止误诊。

综上所述,免疫球蛋白定量和免疫固定电泳可作为少见型 MM 患者 M 蛋白的筛查方法,血清蛋白电泳则可对 MM 患者的临床分期和疗效起到指导价值,结合抗 IgD、IgE 血清对其进一步鉴定分型,提高临床对于该型的诊断水平,防止误诊,延误病情。

参考文献

[1] 张晓晖. 多发性骨髓瘤的实验室诊断(下转第 2131 页)

- Epidemiological overview of uterine cervical Cancer[J]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc, 2015, 53(12):154-161.
- [4] 朴金霞,徐娜,浦建文. 多西紫杉醇联合顺铂治疗宫颈癌放疗后复发的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(33):4682-4683.
- [5] 沈李伟,翟爱民,杜利力,等. 同步放化疗治疗中晚期宫颈癌的临床疗效观察[J]. 中国医药导刊, 2010, 12(11):1877.
- [6] Proto MC, Gazerro P, Di Croce L, et al. Interaction of endocannabinoid system and steroid hormones in the control of colon Cancer cell growth[J]. J Cell Physiol, 2012, 227(1):250-258.
- [7] Wang D, Wang H, Ning W, et al. Loss of cannabinoid receptor 1 accelerates intestinal tumor growth[J]. Cancer Res, 2008, 68(15):6468-6476.
- [8] Jung HW, Park I, Ghil S. Cannabinoid receptor activation inhibits cell cycle progression by modulating 14-3-3 β [J]. Cell Mol Biol Lett, 2014, 19(3):347-360.
- [9] Greenhough A, Patsos HA, Williams AC, et al. The cannabinoid delta (9)-tetrahydrocannabinol inhibits RAS-MAPK and PI3K-AKT survival signalling and induces BAD-mediated apoptosis in colorectal Cancer cells[J]. Int J Cancer, 2007, 121(10):2172-2180.
- [10] Ramer R, Hinz B. Inhibition of Cancer cell invasion by cannabinoids via increased expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(1):59-69.
- [11] Pucci M, Pasquariello N, Battista N, et al. Endocannabinoids stimulate human melanogenesis via type-1 cannabinoid receptor[J]. J Biol Chem, 2012, 287(19):15466-15478.
- [12] Fonseca BM, Correia-da-Silva G, Teixeira NA. The endocannabinoid anandamide induces apoptosis of rat decid-
- ual cells through a mechanism involving ceramide synthesis and p38 MAPK activation[J]. Apoptosis, 2013, 18(12):1526-1535.
- [13] Rimmerman N, Ben-Hail D, Porat Z, et al. Direct modulation of the outer mitochondrial membrane Channel, voltage-dependent anion Channel 1 (VDAC1) by cannabidiol: a novel mechanism for cannabinoid-induced cell death[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(12):e949.
- [14] Brown I, Cascio MG, Rotondo D, et al. Cannabinoids and omega-3/6 endocannabinoids as cell death and anticancer modulators[J]. Prog Lipid Res, 2013, 52(1):80-109.
- [15] Gustafsson AB, Gottlieb RA. Bcl-2 family members and apoptosis, taken to heart[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292(1):C45-51.
- [16] Hartman ML, Czyz M. Anti-apoptotic proteins on guard of melanoma cell survival[J]. Cancer Lett, 2013, 331(1):24-34.
- [17] Waibel M, Solomon VS, Knight DA, et al. Combined targeting of JAK2 and Bcl-2/Bcl-xL to cure mutant JAK2-driven malignancies and overcome acquired resistance to JAK2 inhibitors[J]. Cell Rep, 2013, 5(4):1047-1059.
- [18] Geiger S, Nickl K, Schneider EH, et al. Establishment of recombinant cannabinoid receptor assays and characterization of several natural and synthetic ligands[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2010, 382(2):177-191.
- [19] 吴敏,任瑞宝. 大麻素类化合物抗肿瘤研究新进展[J]. 肿瘤, 2013, 33(5):478-482.
- [20] Cridge BJ, Rosengren RJ. Critical appraisal of the potential use of cannabinoids in Cancer management[J]. Cancer Manag Res, 2013, 5(5):301-313.

(收稿日期:2016-02-18 修回日期:2016-04-21)

(上接第 2127 页)

- 评价[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(31):3505-3506.
- [2] 侯健. 发性骨髓瘤诊断的思考[J]. 临床血液学杂志, 2009, 22(1):1-2.
- [3] 史小安. 206 例多发性骨髓瘤 M 蛋白分型及意义[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(3):494-495.
- [4] Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, et al. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. [J]. Blood, 2005, 106(1):296-303.
- [5] Jakob C, Egerer K, Liebis P, et al. Circulating proteasome levels are an Independent prognostic factor for survival in multiple myeloma[J]. Blood, 2007, 109(5):2100-2105.
- [6] 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.
- [7] 侯健,孔宪涛,刘焱,等. 337 例蛋白血症的血清免疫学特征[J]. 中华医学检验杂志, 1997, 20(2):35-37.
- [8] Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple Myeloma[J]. Blood, 2008, 111(6):2962-2972.
- [9] 叶文娟. 多发性骨髓瘤的实验室诊断及分型[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(12):61-62.
- [10] 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.
- [11] 杨璐,徐俊荣,顾兵. 免疫固定电泳技术对多发性骨髓瘤的分型诊断及预后判断价值[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(16):1975-1976.
- [12] 苏畅,罗绍凯,许丽梅,等. 轻链型多发性骨髓瘤 23 例临床分析[J]. 中国全科医学, 2004, 7(18):1308-1309.

(收稿日期:2016-02-14 修回日期:2016-04-25)