

• 临床研究 •

## M 蛋白阳性患者 2 007 例的体液免疫特征分析

### Analysis of humoral immunological features in 2 007 M protein positive patients

徐玲玲, 杨再兴, 赵文静, 屠小卿, 高春芳\*, 孔宪涛

(第二军医大学长征医院实验诊断科, 上海 200003)

**[摘要]** **目的:** 分析 2 007 例 M 蛋白阳性患者血尿免疫学特征。**方法:** 通过免疫固定电泳、血清蛋白电泳、免疫球蛋白定量以及尿本周蛋白检测, 对 2 007 例 M 蛋白阳性患者体液免疫特征进行综合分析。**结果:** 在 2 007 例 M 蛋白阳性患者中, IgG 型所占比例最大(47.1%), IgD 型最小(5.3%); 血清蛋白电泳后, IgA 型 M 带主要分布于  $\beta$  区, 游离  $\kappa$  型 M 带约一半分布于  $\beta$  区、一半分布于  $\gamma$  区, 其他类型 M 带均主要分布于  $\gamma$  区; IgG、IgA 和 IgM 型患者对应 Ig 的血清浓度均显著增高, IgA 型患者的 IgG 浓度明显低于正常, IgG 和 IgM 型患者非对应 Ig 的血清浓度在正常范围内, IgD 型患者非对应 Ig 的血清浓度明显低于正常, LC 型患者各类 Ig 的血清浓度均显著降低; 游离  $\kappa$  型患者  $\kappa$  轻链的血清浓度在正常范围内,  $\lambda$  轻链低于正常; 其他各型患者对应轻链的血清浓度均显著增高, 非对应轻链除 IgM 型外, 均低于正常; 各类型患者血清  $\kappa/\lambda$  均明显异常。**结论:** 应用免疫固定电泳结合血清蛋白电泳及免疫球蛋白定量等方法可以比较敏感地检测出 M 蛋白, 并对其进行分类、分型, 为临床诊断和治疗提供重要依据。

**[关键词]** M 蛋白; 免疫固定电泳; 血清蛋白电泳; 免疫球蛋白定量; 尿本周蛋白检测

**[中图分类号]** R 446.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2004)12-1343-03

M 蛋白(monoclonal protein), 也称副蛋白或骨髓瘤蛋白, 是骨髓中大量克隆性浆细胞异常增生而分泌的一种单克隆免疫球蛋白或其片段。M 蛋白阳性见于多发性骨髓瘤(MM)、原发性巨球蛋白血症(WM)、重链病(HCD)、原发性淀粉样变性、不明意义的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)等多种淋巴细胞或浆细胞克隆增殖性疾病<sup>[1]</sup>。这些疾病大多缺乏特异性的症状、体征, 临床上容易漏诊或误诊。随着我国人口老龄化的发展, 这些疾病的发病率有逐渐增高的趋势, 因此提高这类疾病的诊断率显得日益重要。目前, 除了骨髓细胞学检查外, 血清免疫学诊断也已经成为确诊这类疾病的重要手段。本室以免疫固定电泳为主要手段, 结合血清蛋白电泳及免疫球蛋白定量等方法从 1990~2004 年送检的 10 682 例标本中检出了 2 007 例 M 蛋白阳性患者, 现报告如下。

#### 1 材料和方法

1.1 病来源 收集我院 1990 年 1 月至 2004 年 3 月门诊、病房和外院及外省市送检病例, 共收集标本 10 682 例。

1.2 免疫球蛋白及轻链定量 采用速率散射比浊法测定, 该方法应用的仪器是: Beckman Array 360 全自动特定蛋白分析系统或 DADE BEHRING BN ProSpec 全自动蛋白分析系统, 试剂均为原装配套试剂。

1.3 血清蛋白电泳和免疫固定电泳 应用美国 Helena Laboratories 公司 REP II 和 spife2000 电泳仪。血清蛋白电泳后用其扫描仪标定各峰值及 M 蛋白百分比。免疫固定电泳均采用配套试剂, 操作按该公司操作技术常规。

1.4 尿本周蛋白 ELISA 法检测 (1)取新鲜尿液做适当稀释后 100  $\mu$ l/孔(复孔)加入酶标板中, 37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h 后加封闭液 4  $^{\circ}$ C 过夜; (2)分别加入抗  $\kappa$  或抗  $\lambda$  抗体(DAKO 公司提供, 免抗人), 37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h; (3)洗板后加入二抗(晶美公司提供, 羊抗兔 IgG(Fab)), 37  $^{\circ}$ C 孵育 45 min; (4)OPD 显色, 酶标仪

492 nm 比色(Thermo Labsystems MK3); (5)根据  $\kappa$  和  $\lambda$  比值判断结果。

1.5 统计学处理 组间比较采用  $t$  检验。

#### 2 结果

2.1 M 蛋白类型及其血清蛋白电泳特点 10 682 例送检标本中, 共检出 M 蛋白阳性患者 2 007 例, 男性 1 260 例, 女性 747 例, 平均年龄(62.1 $\pm$ 12.0)岁, 最小 18 岁, 最大 93 岁。其中, IgG 型 945 例(47.1%), IgA 型 461 例(23.0%), IgM 型 175 例(8.7%), 轻链(LC)型 320 例(15.9%), IgD 型 106 例(5.3%)。所有标本都进行了血清蛋白电泳, 其中 1 807 例见到窄底尖峰的单克隆电泳带(M 带)。其分布与 M 蛋白类别的关系见表 1。除 IgA 型和游离  $\kappa$  型外, 其他类型 M 蛋白阳性患者血清蛋白电泳 M 带主要分布于  $\gamma$  区。IgA 型 M 带主要分布于  $\beta$  区, 占 57.6% (245/425); 游离  $\kappa$  型 M 带约一半分布于  $\beta$  区, 一半分布于  $\gamma$  区。所有 M 蛋白阳性患者中, IgD 型最少见(5.3%, 65/1 807), 其血清蛋白电泳 M 带全部分布于快  $\gamma$  区。游离  $\lambda$  型 M 蛋白带有 10 例分布于  $\alpha_2$  区, 其他类型未见 M 蛋白带有  $\alpha_2$  区的分布。

2.2 各类型 M 蛋白阳性患者血清 Ig 的测定结果 IgG、IgA 和 IgM 型患者对应 Ig 的血清浓度均显著高于正常范围( $P<0.01$ ), 而非对应 Ig 的血清浓度只有 IgA 型患者的 IgG 浓度明显低于正常范围( $P<0.01$ ), IgG 和 IgM 型患者非对应 Ig 的血清浓度虽然略有降低, 但并不显著。IgD 型患者非对应 Ig 的血清浓度明显低于正常范围( $P<0.01$ )。LC 型患者各类 Ig 的血清浓度均显著降低( $P<0.01$ )。见表 2。

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30270605)。

**[作者简介]** 徐玲玲(1973-), 女(汉族), 技师。

\*Corresponding author. E-mail: wanggaob@online.sh.cn

表 1 血清蛋白电泳 M 蛋白带的位置与 M 蛋白类型的关系

| M 蛋白类型       | M 蛋白在血清蛋白电泳在不同位置上的分布 |         |            |            |            | 合计    |
|--------------|----------------------|---------|------------|------------|------------|-------|
|              | $\alpha_2$           | $\beta$ | 快 $\gamma$ | 中 $\gamma$ | 慢 $\gamma$ |       |
| IgG          | 0                    | 54      | 235        | 253        | 324        | 866   |
| IgA          | 0                    | 245     | 164        | 16         | 0          | 425   |
| IgM          | 0                    | 0       | 40         | 105        | 18         | 163   |
| IgD          | 0                    | 0       | 65         | 0          | 0          | 65    |
| 游离 $\kappa$  | 0                    | 56      | 23         | 9          | 23         | 111   |
| 游离 $\lambda$ | 10                   | 59      | 79         | 29         | 0          | 177   |
| 合计           | 10                   | 414     | 626        | 402        | 355        | 1 807 |

表 2 各类 M 蛋白阳性患者血清 Ig 的浓度

| M 蛋白类型       | n   | $(\bar{x} \pm s, \text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ |                      |                      |
|--------------|-----|-------------------------------------------------|----------------------|----------------------|
|              |     | IgG                                             | IgA                  | IgM                  |
| IgG          | 945 | 47.36 $\pm$ 31.73 **                            | 1.24 $\pm$ 0.85      | 1.29 $\pm$ 0.72      |
| IgA          | 461 | 5.64 $\pm$ 3.52 **                              | 39.56 $\pm$ 28.45 ** | 0.52 $\pm$ 0.43      |
| IgM          | 175 | 11.65 $\pm$ 7.24                                | 1.83 $\pm$ 1.54      | 29.62 $\pm$ 10.25 ** |
| IgD          | 106 | 5.32 $\pm$ 1.94 **                              | 0.47 $\pm$ 0.36 **   | 0.30 $\pm$ 0.18 **   |
| 游离 $\kappa$  | 123 | 6.64 $\pm$ 3.51 **                              | 0.75 $\pm$ 0.23 **   | 0.41 $\pm$ 0.13 **   |
| 游离 $\lambda$ | 197 | 6.68 $\pm$ 3.97 **                              | 0.55 $\pm$ 0.45 **   | 0.38 $\pm$ 0.36 **   |

各种 Ig 血清浓度正常参考范围: IgG 8.00~15.00  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , IgA 0.85~3.00  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , IgM 0.50~2.50  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; \*\*  $P < 0.01$  与正常值比较

在各型 M 蛋白阳性患者中,游离  $\kappa$  型患者  $\kappa$  轻链的血清浓度在正常范围内,  $\lambda$  轻链低于正常 ( $P < 0.01$ ); 其他各型患者对应轻链的血清浓度均显著高于正常 ( $P < 0.01$ ), 非对应轻链除 IgM 型外, 均低于正常; IgM 型患者非对应轻链的血清浓度在正常范围内。各类  $\kappa$  型患者血清  $\kappa/\lambda$  的值均明显高于正常 ( $P < 0.01$ ), 各类  $\lambda$  型患者血清  $\kappa/\lambda$  的值均明显低于正常 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 各型 M 蛋白阳性患者血清轻链的浓度

| M 蛋白类型        | n   | $(\bar{x} \pm s, \text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ |                      |                      |
|---------------|-----|-------------------------------------------------|----------------------|----------------------|
|               |     | $\kappa$                                        | $\lambda$            | $\kappa/\lambda$     |
| IgG $\kappa$  | 506 | 48.72 $\pm$ 43.75 **                            | 1.67 $\pm$ 2.91      | 94.42 $\pm$ 91.00 ** |
| IgG $\lambda$ | 439 | 3.27 $\pm$ 3.03                                 | 34.69 $\pm$ 34.06 ** | 0.31 $\pm$ 0.43 **   |
| IgA $\kappa$  | 223 | 32.22 $\pm$ 27.62 **                            | 1.81 $\pm$ 1.52      | 32.43 $\pm$ 30.91 ** |
| IgA $\lambda$ | 238 | 3.64 $\pm$ 2.78                                 | 18.12 $\pm$ 4.21 **  | 0.45 $\pm$ 0.46 **   |
| IgM $\kappa$  | 122 | 25.61 $\pm$ 21.04 **                            | 3.66 $\pm$ 3.08      | 13.82 $\pm$ 16.44 ** |
| IgM $\lambda$ | 53  | 8.98 $\pm$ 8.04                                 | 16.79 $\pm$ 10.73 ** | 0.73 $\pm$ 0.61 **   |
| IgD $\kappa$  | 10  | 9.89 $\pm$ 8.46 **                              | 1.41 $\pm$ 0.78      | 7.17 $\pm$ 7.21 **   |
| IgD $\lambda$ | 96  | 2.84 $\pm$ 1.85                                 | 9.73 $\pm$ 8.16 **   | 0.56 $\pm$ 0.46 **   |
| 游离 $\kappa$   | 123 | 12.51 $\pm$ 12.90                               | 1.74 $\pm$ 1.19 **   | 8.48 $\pm$ 8.90 **   |
| 游离 $\lambda$  | 197 | 3.83 $\pm$ 2.58 **                              | 12.59 $\pm$ 12.46 ** | 0.64 $\pm$ 0.54 **   |

正常参考范围:  $\kappa$  5.74~12.76  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\lambda$  2.69~6.38  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\kappa/\lambda$  1.47~2.95  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; \*\*  $P < 0.01$  与正常值比较

2.3 各种检测指标的敏感性 以免疫固定电泳的结果作为参考, 观察各指标检测 M 蛋白的能力, 表中各指标的阳性界定为: 血清 Ig 及轻链依据正常参考范围; 血和尿  $\kappa/\lambda > 3$  或  $< 1$ ; 血清蛋白电泳出现 M 带。各种检测指标的敏感性依次为: 血清  $\kappa/\lambda$  94.4%, 血清蛋白电泳 90.0%, 血清 Ig 83.9%, 血清轻链 80.9%, 尿  $\kappa/\lambda$  58.0%。

### 3 讨论

M 蛋白是恶性浆细胞在骨髓内无限增殖并产生的单克隆免疫球蛋白, 其成分分为 IgG、IgA、IgM、IgD、IgE、LC 型等等, 对 M 蛋白的检测是浆细胞与 B 淋巴细胞增殖性疾病实验室检测的一个重要内容。在本室所检测的 2 007 例 M 蛋白阳性患者中, 各类型所占的比例与本室以前以及其他国内实验室所报道的结果<sup>[1,2]</sup>基本一致, 但与国外文献报道的结果略有不同, 其中 IgG 型的比例明显低于国外, 而 IgD 及 LC 型的比例远远高于国外<sup>[3]</sup>。分析其原因, 可能与人的种族差异有关。

血清蛋白电泳技术是广泛应用于临床实验室以分析血清蛋白成分的一种方法, 在临床工作中, 以醋酸纤维素膜的应用最广, 但以琼脂糖为电泳支持物的全自动电泳系统具有比醋酸纤维素膜更强的分辨力<sup>[4]</sup>, 本实验室即以琼脂糖快速电泳系统检测 M 蛋白。M 蛋白经电泳后在  $\alpha_2$ - $\gamma$  区形成致密浓染区带, 光密度扫描可见基底较窄而均匀的单峰, 不同类型的 M 蛋白显示的 M 带位置不同。在本组病例中, IgD 型的 M 带均位于快  $\gamma$  区, 该结果尚未见文献报道。其他类型 M 蛋白的位置与文献报道<sup>[2]</sup>基本一致。

血清中 M 蛋白的数量通常是对浆细胞在骨髓内单克隆增殖程度的一种反映。由于恶性浆细胞的异常增殖抑制正常 Ig 的产生, 因此 M 蛋白对应 Ig 的血清浓度会显著增高, 而非对应的 Ig 则显著下降。在本研究中, 各类型 M 蛋白阳性患者对应 Ig 的血清浓度均显著升高, IgD 型非对应的 Ig 明显降低; IgA 型患者血清 IgG 浓度显著低于正常; 但 IgG 和 IgM 型非对应的 Ig 均在正常范围内, 病变型 Ig 及其他非对应 Ig 水平可能与临床上的疾病类型以及骨髓内浆细胞的恶性增殖程度及治疗反应等有关, 比如原发性巨球蛋白血症时, 单克隆 IgM 含量增高可不伴有 IgA 和 IgG 浓度的降低<sup>[5]</sup>。LC 型由于浆细胞合成重链的能力被选择性抑制, 只能合成轻链, 因而各种 Ig 含量均降低, 本研究结果也验证了这一点。此外, 本室还检测了各型患者血清中轻链的情况, 结果显示, 除 IgD  $\kappa$  和游离  $\kappa$  型外,  $\kappa$  型的各类 M 蛋白阳性患者血清中的  $\kappa$  浓度均显著增高,  $\lambda$  浓度均显著降低, IgD  $\kappa$  和游离  $\kappa$  型血清  $\kappa$  浓度在正常范围内,  $\lambda$  浓度显著降低。所有  $\kappa$  型的  $\kappa/\lambda$  均明显高于正常;  $\lambda$  型的各类 M 蛋白阳性患者血清中的  $\lambda$  浓度均显著增高,  $\kappa$  浓度均显著降低,  $\kappa/\lambda$  均明显低于正常。这与杨俊杰等<sup>[6]</sup>报道的略有不同。

免疫固定电泳是包括蛋白电泳和免疫固定两个过程的操作。该技术具有周期短、敏感性和分辨率高、结果易于分析等优点, 能检测到 0.50~1.50  $\text{g/L}$  含量的单克隆抗体。目前, 鉴定 M 蛋白尚无公认的金标准, 而 IFE 已经成为研究单克隆性免疫球蛋白增殖病的最好方法。因此, 本室即以 IFE 的结果为参考, 比较了其他几种检测指标的敏感性, 结果显示, 以  $\kappa/\lambda > 3$  或  $< 1$  为阳性标准, 血清  $\kappa/\lambda$  敏感性最高, 达到了 94.4%, 血清蛋白电泳次之, 为 90.0%, 而尿  $\kappa/\lambda$  的敏感性最低, 仅为 58.0%。可以看出手工 ELISA 的方法检测尿本周蛋白敏感性较差, 已经不太适合现代实验室诊断要求, 因此, 本

实验室目前已经用尿轻链定量的方法取代了手工 ELISA。

据文献报道<sup>[7]</sup>,单克隆免疫球蛋白增殖性疾病可发生于任何年龄,且发病率随年龄的增长而增加。本室检测的2 007例M蛋白阳性患者年龄范围是18~93岁,平均年龄为62.1岁,发病高峰主要集中于55~65岁,这与以前国内文献报道<sup>[8]</sup>的结果有所不同,而与国外文献报道<sup>[9]</sup>的结果接近,可能与我国经济水平提高,老龄化人口增多有关。各类型之间的发病年龄没有明显差异。此外,本室检测的结果表明,M蛋白阳性率存在着性别差异,男性高于女性,男女比例约为1.7:1。

关于单克隆免疫球蛋白增殖性疾病,国内外已有不少报道。与这些报道相比,本研究的优势在于收集的病例数多,检测方法全面可靠,结果具有较强的代表性,为进一步提高对M蛋白免疫学特征的认识奠定了良好的基础。

#### 参考文献

- [1] 孔宪涛 主编. 免疫球蛋白异常的基础和临床[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,1997. 194-289.
- [2] 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):102-104.

- [3] 缪丽韶,喻雄文. 28例多发性骨髓瘤的血清免疫学分析[J]. 上海医学检验杂志,2001,16(1):8-9.
- [4] Kyle RA. Diagnostic criteria of multiple myeloma[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*,1992,6(2):347-358.
- [5] Aguzzi F, Jayakar SD, Merlin G, et al. Electrophoresis: cellulose acetate vs agarose, visual inspection vs densitometry[J]. *Clin Chem*,1981,27(11):1944-1945.
- [6] 侯 健. M蛋白的鉴定及结果分析[J]. 中华血液学杂志,2002,23(10):559-560.
- [7] 杨俊杰,张广森,陈新瑞,等. 72例多发性骨髓瘤单克隆蛋白分析[J]. 湖南医科大学学报,2001,23(2):152-154.
- [8] Marshall AL. Essential and secondary monoclonal gammopathies[A]. In: Williams WJ ed. *Hematology*[M]. 5th ed. New York: McGraw Hill Inc., 1995. 113-114, 1104-1109, 1110-1127.
- [9] 陈世伦,李燕彬,张 鹏,等. 798例M蛋白阳性患者的临床分析[J]. 中华内科杂志,2001,40(6):398-400.

[收稿日期] 2004-07-23

[修回日期] 2004-10-11

[本文编辑] 曹 静

## • 临床研究 •

# 抗坏血酸、胆红素和血红蛋白对临床生化指标检测的影响

Influence of ascorbic acid, bilirubin and hemoglobin on laboratory parameters

顾鹏飞,耿红莲,竺 蓓,袁 媛,王爱华,高春芳

(第二军医大学长征医院实验诊断科,上海 200003)

**摘要** 目的:探讨血清标本中抗坏血酸、游离胆红素、结合胆红素和血红蛋白等物质对临床生化指标检测的干扰和影响。

**方法:**健康志愿者复合血清加入不同浓度梯度的上述干扰物质后,用全自动生化分析仪检测血糖(Glu)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、总胆固醇(TCH)和三酰甘油(TG)的水平。**结果:**抗坏血酸、游离胆红素和结合胆红素浓度与Glu水平呈负相关( $r = -0.999\ 46, -0.997\ 79, -0.999\ 38, P < 0.05$ ),与Cr、UA和TCH的水平无明显相关性。血红蛋白与TG呈负相关( $r = -0.962\ 63, P < 0.05$ ),与UA正相关( $r = 0.995\ 37, P < 0.05$ ),与其余指标无明显相关性。**结论:**抗坏血酸、游离胆红素、结合胆红素和血红蛋白等物质会对临床生化指标构成干扰,在解释检验结果时应考虑到上述因素。

**关键词** 抗坏血酸;胆红素;血红蛋白;诊断

[中图分类号] R 446.1

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2004)12-1345-02

溶血、脂血、胆红素或标本采集前患者用过药对临床生化检验结果的干扰和影响,经常会造成假阳性或假阴性结果,使得检验结果与临床表现不符<sup>[1]</sup>。针对目前临床常用的维生素C及待测标本黄疸、溶血等情况,我们分析了抗坏血酸、游离胆红素、结合胆红素和血红蛋白等干扰物质对临床生化指标,包括血糖(Glu)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、总胆固醇(TCH)和三酰甘油(TG)水平的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 主要试剂和仪器** 抗坏血酸、游离胆红素、结合胆红素和血红蛋白等化学物质由日本世诺临床诊断制品(上海)贸易有限公司提供。检测试剂Glu(北京利德曼生化技术有限

公司)、Cr(德国RANDOX公司)、UA、TG和TCH(日本和光纯药工业株式会社)。所用仪器为美国雅培AEROSSET全自动生化分析仪。

**1.2 标本制备** 取25例健康体检者空腹静脉血4 ml(无黄疸、溶血和脂浊),室温静置1 h后4 000 r/min离心5 min,各取2 ml血清制成一混合血清50 ml备用。每2 ml混合血清为一管,每6管为一组,组内各管分别加入不同浓度梯度的同一种化学物质,最终配制成4组共24管不同干扰条件的混合血清。24管待测混合血清中各干扰物质的终浓度如表1所示。

[作者简介] 顾鹏飞(1976-),男(汉族),技师。