

个案分析

1 例 IgM 异常升高的患者血清蛋白电泳处理方案及条带解读

王金玲, 刘霞, 吴艳艳, 王培昌[△]

(首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053)

关键词:血清蛋白电泳; 免疫固定电泳; 免疫球蛋白 M; β 巯基乙醇; M 蛋白**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.10.036**中图法分类号:**R730.43**文章编号:**1673-4130(2018)10-1279-02**文献标识码:**C

血清是数种蛋白的混合液,血清蛋白电泳是分离血清蛋白质最简单、快速、也是最敏感的方法之一,电泳后可直观的计算五条区带蛋白质的水平,了解患者血清蛋白质全貌,对血清中异常蛋白进行筛选,从而能够初步判断病变部位及病因。临床上,无论何种原因引起的红细胞沉降率增加和免疫球蛋白增高都需进行常规的血清蛋白电泳。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本文在对 1 例患者进行常规的免疫球蛋白定量检测中发现该患者 IgM 异常增高(42.8 g/L),随即对该患者进行血清蛋白电泳,然而几次实验,电泳泳道上均无任何条带,可能与以下几个原因有关:(1)该患者的血液黏稠度极高,常规电泳可能造成蛋白不分离的现象;(2)患者血清可能含有大量冷球蛋白成分,使得蛋白质很难透过加样孔的滤纸,蛋白难以滤过^[1];(3)患者的 IgM 浓度过高,而 IgM 本身为五聚体结构,且相对分子质量较大,从而造成蛋白质的分离不畅,条带不分离的现象。

1.2 方法

1.2.1 针对上述可能的原因,笔者采用了 3 种方法预处理待检血清,期待经处理后的血清能够进行正常的蛋白电泳。(1)由于患者血清的血液黏稠度过高,直接将样本加到加样梳圆孔内会导致过滤不畅,本研究直接将待检测血清加到加样梳滤纸上,免去了血清过滤一步。(2)用 1% 的 β 巯基乙醇预处理患者的血清;(3)用 2% 的 β 巯基乙醇预处理该患者的血清。由于患者 IgM 浓度过高,本研究使用 β 巯基乙醇预处理待检血清。 β 巯基乙醇具有很强的还原作用,能够打开连接 IgM 单体的二硫键,从而使五聚体结构的大分子还原成单体形式。在本研究中,分别用 1% 和 2% 的 β 巯基乙醇预处理该患者的血清,期待上述 3 种预处理方法中有至少一种能够解决蛋白质不过滤、不分离的现象。

1.2.2 血清蛋白电泳及固定电泳 采用法国 Sebia HYDRASYS 琼脂糖凝胶电泳仪及其原装蛋白电泳、免疫固定电泳试剂盒进行电泳和扫描^[2]。(1)血清蛋白电泳:取 10 μ L 血清样本于加样梳在琼脂凝胶板上电泳、干燥、氨基黑染色、脱色、烘干、扫描。(2)免疫

固定电泳:把血清标本的 M 蛋白浓度预稀释成 1.5 g/L 左右,取 10 μ L 于加样梳,在琼脂凝胶板上电泳后,依次加入 12 μ L 抗人全组分血清,12 μ L 抗 IgG、抗 IgA、抗 IgM、抗 κ 、抗 λ 血清,孵育、固定、沉淀蛋白,洗去多余的抗血清,干燥、紫酸染色、脱色、烘干,观察结果。

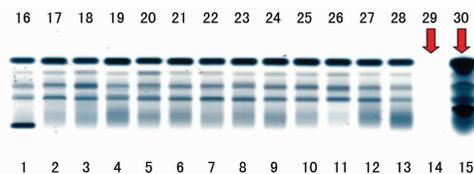
1.2.3 免疫球蛋白定量 采用美国 Beckman Imagination800 特定蛋白分析仪及其配套试剂检测血清样本免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM),实验操作均严格按照仪器和试剂说明书规定的操作流程进行。

1.3 试剂 血清蛋白电泳、免疫固定电泳均使用 Sebia 公司生产的配套试剂盒。免疫球蛋白定量使用 Beckman 公司生产的特种蛋白分析试剂盒。

2 结果

2.1 患者血清未经处理直接进行血清蛋白电泳的结果见图 1,14 号泳道,血清中高度聚合的蛋白分子凝聚到凝胶加样孔中,并未通过加样孔的滤纸过滤,导致该泳道空白,没有任何条带。

2.2 为避免蛋白不过滤的现象,本文直接将患者血清加到加样梳的滤纸上,结果见图 1,15 号泳道,蛋白条带虽然已出,但拖尾干扰严重,无法判读各种蛋白质成分。



注:14 号泳道为未经任何处理的血清蛋白电泳的结果;15 号泳道为将直接血清加到加样梳后蛋白电泳结果

图 1 未经任何处理的血清蛋白电泳

2.3 患者血清预先用 1% 的 β 巯基乙醇处理后进行蛋白电泳见图 2,3 号泳道,条带清晰,能够清楚的显示 γ 球蛋白区域产生单克隆条带。

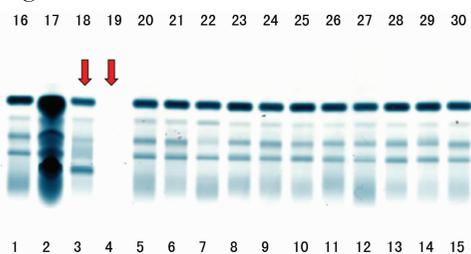
2.4 患者血清预先用 2% 的 β 巯基乙醇预处理后进行蛋白电泳见图 2,4 号泳道,条带缺失,泳道空白。

2.5 血清蛋白电泳提示该患者 M 蛋白阳性,为更具体地对 M 蛋白进行鉴定分型,对患者血清进行免疫固定电泳见图 3,高度聚合的片段陷入凝胶加样孔中,

[△] 通信作者, E-mail:pcw1905@126.com。

以致所有泳道均出现沉淀线。

2.6 为更直观地显示 M 蛋白的具体分型,本文使用 1% 的 β 巯基乙醇预处理待检血清后重新进行免疫固定电泳,β 巯基乙醇使大分子聚合蛋白解聚,变成单体形式,从而顺利进行电泳,结果提示该患者单克隆 M 蛋白是 IgM-κ 型。



注:3号泳道为1%的β巯基乙醇预处理待检血清;4号泳道为2%的β巯基乙醇预处理待检血清

图2 β巯基乙醇预处理血清后的电泳结果

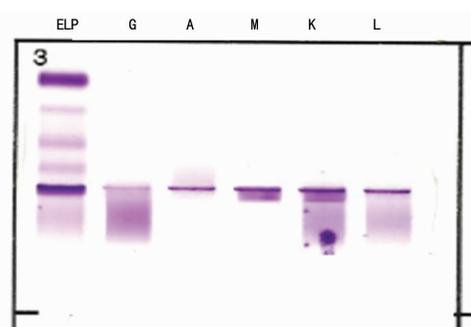


图3 待检血清直接进行免疫固定电泳的结果

3 讨论

M 蛋白是起源于骨髓前 B 细胞恶性增殖产生的一种均一性单克隆免疫球蛋白(副蛋白),90%以上多发性骨髓瘤(MM)患者血清及尿中可检测到 M 蛋白^[3]。作为 MM 诊断的重要指标之一,由于 MM 细胞增殖不同,以及分泌异常免疫球蛋白的种类和数量不一致,一般除通过骨髓涂片、组织活检、X 线来确诊外,血清蛋白电泳是分离、检测蛋白质的最常用、最简单的方法,鉴于其高敏感性,它可对血清中异常蛋白质进行早期筛选;血清免疫固定电泳则是 M 蛋白轻链、重链分型鉴定的金标准,也是 MM 的确诊的重要依据。同时结合免疫球蛋白重链和轻链的定量和定性分析,可以说,在 MM 的早期诊断、鉴别诊断、监测疗效、预后判断等方面,免疫球蛋白定量分析、血清蛋白电泳、免疫固定电泳三者缺一不可^[4-5]。

本文的病例正是从 1 例常规的免疫球蛋白定量分析中单纯的 IgM 增高找到突破口,继而进行血清蛋白电泳时发现一系列问题:首先患者血清出现异常的蛋白不过滤也不分离的现象,几次重复实验依旧如此,为此本文分析了 3 种可能原因,然后,针对不同原因,本文用不同的方法预先处理了待检血清,结果证实,应用 1% 的 β 巯基乙醇能够得到最理想的蛋白电泳条带,从条带分析中又得到在 γ 球蛋白区域出现狭窄均一的单克隆 M 蛋白,继而本研究又应用免疫固定电泳对患者的 M 蛋白进行具体分型,由于高度聚合的大分子 IgM 的影响,以致所有泳道均出现沉淀

线,同样影响分型解读,本文应用 1% 的 β 巯基乙醇预处理血清后,得到非常清晰的 IgM-κ 型的单克隆免疫球蛋白结果。

浆细胞增殖性疾病常常以典型的临床症状起病,例如骨痛、溶骨改变、感染倾向、高黏滞血症、贫血等等,但也有不少此病患者就诊时临床症状极其不典型、因此初诊时误诊、漏诊率很高^[6]。有的患者可仅仅表现为蛋白尿,而无其他常见的临床症状^[7];有的老年患者甚至长期以胸腰椎骨质增生、椎间盘突出等骨退行性病变为主要表现^[8];另外,浆细胞增殖性疾病误诊为肾炎、肾功能不全、肝功能异常的报道也不在少数^[9-10]。本文中患者仅仅表现为血清 IgM 增高,出于检验人员对此类疾病的高度警惕,笔者及时与主管大夫联系,第一时间加做血清蛋白电泳,继而才能使患者的病情在较早期阶段得到确诊和治疗,同时也为在电泳时蛋白不过滤、条带不分离的问题提供了具体的方法学依据。

通过这个病例,笔者从中体会到,当机体出现脏器功能异常尤其是肝肾功能异常,血清免疫球蛋白异常增高或减低的情况时,除典型疾患的可能性外,应联想到浆细胞增殖性疾病。及时行血清蛋白电泳和免疫固定电泳,有条件也应第一时间行尿液本周蛋白检测,上述实验结合分析将极大地促进疾病的早期诊断。

参考文献

- [1] 尹美娜,尹丽萍.血清蛋白电泳与尿蛋白电泳在儿科肾脏疾病的联合应用[J].中华肿瘤防治杂志,2016,23(S2):411-412.
- [2] 张永生,王学兰,杨燕. Sebia 电泳仪的临床应用评价[J].现代检验医学杂志,2003,18(5):45-46.
- [3] 中国医师协会血液科医师分会.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.
- [4] 颜绵生,王松子,廖慧芳.54例轻链型单克隆免疫球蛋白血症的蛋白水平分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(13):1649-1650.
- [5] 杨辛,林洁.免疫固定电泳分型技术在 M 蛋白相关疾病诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2015,36(21):3128-3130.
- [6] WILLRICH M A,KATZMANN J A. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine,2016,54(6):907-919.
- [7] 陈结慧,常巨平,祝胜郎,等.仅表现为蛋白尿的早期多发性骨髓瘤 1 例[J].罕少疾病杂志,2006,13(3):57-58.
- [8] 岳仙红.多发性骨髓瘤误诊 84 例分析[J].中国误诊学杂志,2006,6(22):4311.
- [9] 杨泽松,陈建斌,张红宾,等.多发性骨髓瘤误诊为肾脏疾病 7 例分析[J].中国误诊学杂志,2006,6(23):4600.
- [10] 王育芳,王佳丽,马顺高.血清蛋白电泳和固定电泳在多发性骨髓瘤中的应用分析[J].检验医学与临床,2013,10(5):577-579.