

• 短篇论著 •

尿蛋白电泳在尿蛋白定量检测中的应用

陆捷, 管青, 桂清荣, 张文倩

(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科, 湖北武汉 430000)

摘要:目的 探讨尿蛋白电泳技术在常规生化检测尿总蛋白(UTP)、微量清蛋白(UmALB)中的应用。方法 选取 2017 年 6 月于该院经 UTP、UmALB 检测后的 61 例晨尿标本($UmALB < 50\%$), 使用尿蛋白电泳技术进行分析。结果 16 例 UTP 定量(24 h 尿蛋白定量)正常、UmALB 定量正常或升高, UmALB 百分率($\%$)处于 $2.31\% \sim 41.87\%$, 均为生理性蛋白尿; 45 例 UTP 定量升高、UmALB 定量正常或升高, UmALB $\%$ 处于 $0.99\% \sim 45.12\%$ 时 31 例肾小管性蛋白尿占 68.9% , 4 例溢出性蛋白尿占 8.9% , 10 例生理性蛋白尿占 22.2% 。结论 当 UTP、UmALB 定量中出现 UTP 定量升高并且 UmALB $\% < 50\%$ 进行尿蛋白电泳检测, 进而明确尿中蛋白质类型, 特别是在判断尿中蛋白是否以小分子蛋白为主方面对临床有极大的帮助, 应加强其在临床的应用。

关键词:十二烷基磺酸钠-琼脂糖凝胶电泳; 尿总蛋白; 尿微量清蛋白; 肾小管性蛋白尿

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.036

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2018)23-2983-03

文献标识码:B

蛋白尿是体内蛋白质经肾单位中肾小球滤过、近曲小管主动重吸收及随后的分解代谢和肾小管分泌作用的最终结果, 而尿液中蛋白的性质及其来源, 则可反映肾损害的类型或肾外异常的发病机制^[1]。张玲等^[2]使用免疫比浊法测定尿中总蛋白、清蛋白的研究显示, 二者差异程度与疾病种类无关, 而与病变及肾脏的受损程度有关, 中度或重度蛋白尿推荐使用尿蛋白电泳技术做进一步分析, 但未提及轻度蛋白尿是否也因当引起足够的重视。国内外研究者均已明确尿中蛋白质来源和清蛋白所占比例为 $40\% \sim 50\%$ ^[3-4]。目前, 随着常规生化使用免疫比浊法检测尿总蛋白(UTP)、微量清蛋白(UmALB)在临床的应用越来越广泛, 尿蛋白电泳已作为检测尿蛋白的参考方法^[5], 当尿蛋白定量结果 UmALB $\% < 50\%$ 时, 如何为临床提供更多可参考的信息, 有必要明确尿中蛋白质的其他成分。通过十二烷基磺酸钠(SDS)-琼脂糖凝胶(AGE)电泳-尿蛋白电泳技术分离尿中蛋白成分, 明确尿中蛋白种类, 进而获取肾脏局部病变信息, 有助于解决临床问题。

1 材料与方法

1.1 材料 对 2017 年 6 月于本院进行晨尿蛋白定量分析样本, 以 $3\,000\text{ r/min}$ 离心 5 min 后进行比浊法测定, 选取 UmALB $< 50\%$ 共 61 例晨尿标本进行 SDS-AGE 电泳。

1.2 仪器与试剂

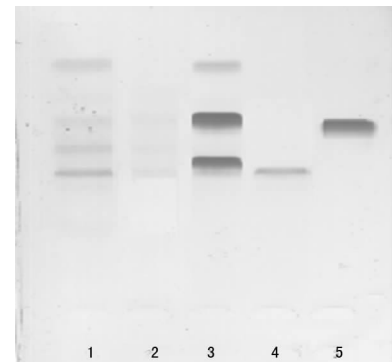
1.2.1 仪器 UTP、UmALB 采用罗氏 Modular P800 生化分析仪, 尿蛋白电泳采用法国 SEBIA HY-DRASYSII 半自动电泳仪, 扫描仪由 Epson 公司提供。

1.2.2 试剂 罗氏 UTP、UmALB 采用配套试剂盒、校准品, 试剂均在开瓶有效期内; 法国 SEBIA 尿蛋白电泳配套试剂盒; 0.9% 氯化钠溶液(生理盐水)。

1.3 方法

1.3.1 检测方法 UTP 采用比浊法、UmALB 采用免疫比浊法, 严格按照罗氏公司提供的说明书进行检测且当日质控结果在控。尿蛋白电泳采用 SDS-AGE 电泳法, 定量检测后进行尿蛋白电泳检测, 标本 $80\text{ }\mu\text{L}$ (UTP 高值标本使用生理盐水稀释至 $2\,000\text{ mg/L}$ 左右)与 $20\text{ }\mu\text{L}$ SDS 混匀 5 s , 取 $5\text{ }\mu\text{L}$ 混匀后的样本加于凝胶凹槽处, 电泳, 染色完毕后使用 Espon 扫描仪扫描, 进行背景编辑处理后, 给出尿中各蛋白成分的百分比。UTP、UmALB 定量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

1.3.2 结果判断 晨尿标本正常参考范围: UTP $< 150\text{ mg/L}$, UmALB $< 20\text{ mg/L}$, 大于参考区间上限结果为高值结果; 尿蛋白电泳结果判断如图 1。



注: 1、2 代表肾小管性蛋白尿, 4 代表生理性蛋白尿, 3、5 代表溢出性蛋白尿

图 1 尿蛋白电泳图谱

2 结 果

61 例 UTP、UmALB 定量结果中清蛋白含量<50%检测结果及尿蛋白电泳检测结果见表 1。Um-ALB<50%共 61 例,经尿蛋白电泳发现 35 例存在小分子蛋白,小分子蛋白以 β 2 微球蛋白、视黄醇结合蛋白、游离轻链、 α 1 微球蛋白及轻链二聚体为主。13 例为尿微量总蛋白正常且 UmALB 正常,尿蛋白电泳显

示仅存在少量清蛋白,无临床意义。UTP 升高且 UmALB 正常 20 例,其中 16 例均存在小分子蛋白为肾小管性蛋白尿,4 例为生理性蛋白尿。UTP、Um-ALB 同时升高 21 例,其中 15 例存在小分子蛋白,其余 6 例经尿蛋白电泳仅存在清蛋白成分。3 例尿微量总蛋白结果>2 000 mg/L 且 UmALB<90 mg/L,是以游离轻链为主的溢出性蛋白尿。

表 1 UTP、UmALB 及尿蛋白电泳结果分析

项目	UTP 定量 (mg/L)	UmALB 定量 (mg/L)	UmALB 含量 (%)	n	SDS-尿蛋白电泳法 (蛋白尿类型)
UTP-UmALB-	105.9±25.8	8.6±4.7	<15.0	13	生理性蛋白尿
UTP-UmALB↑	114.7±17.1	32.8±6.6	20.0~40.0	3	生理性蛋白尿
UTP↑ UmALB-	214.5±49.3	10.8±4.8	<10.0	20	16 例肾小管性蛋白尿,4 例生理性蛋白尿
UTP↑ UmALB↑	281.0±90.0	74.1±53.6	10.0~50.0	21	15 例肾小管性蛋白尿,6 例生理性蛋白尿
UTP↑↑↑ UmALB↑	>2 000	<90	<3.4	4	4 例溢出性蛋白尿以单克隆游离轻链为主

3 讨 论

众所周知,肾小球滤过膜具有分子筛作用,物理屏障只允许(6~7)×10⁴ 相对分子质量的蛋白质分子通过;肾小球毛细血管壁的蛋白聚糖带负电荷,从而构成了静电屏障,由于同性电荷相斥的原理,因而带负电荷的蛋白质滤过率较低;而相对分子质量<4×10⁴ 的低分子蛋白质虽然可以通过滤过膜,但近曲小管的重吸收作用致使正常尿液所含的蛋白质极少,每日排出量<150 mg^[6]。少量但反常的清蛋白尿被称为微蛋白尿,其类型可以是肾小球性、肾小管性及肾后性衰竭等引起。有文献报道,尿蛋白电泳、UTP 和 UmALB 三者联合检测在糖尿病早期肾病中具有良好的应用价值^[7]。本试验中 UTP 升高、UmALB 正常或升高时的 10 例为生理性蛋白尿,造成这种结果不匹配的原因可能是由于方法学差异,使尿微量总蛋白在低值时比 UmALB 更易受背景干扰;或由于药物代谢尤其是造影剂对 UTP 测定产生不同程度的干扰所致。在 UTP 和 UmALB 定量均处于正常范围而引起的 UmALB<50%的情况下未发现病理性蛋白尿,但不能排除在肾损伤早期,肾小管处于代偿阶段,小分子蛋白的沉积、黏附、清蛋白刺激间质炎症发展,逐步损伤肾小管^[8],致使终尿中小分子蛋白含量逐渐增多而尿蛋白定量结果未见异常,而尿蛋白电泳中仍会发现小分子蛋白存在的情况。

4 例 UmALB%<3.4%的标本 UTP 异常高值(>2 000 mg/L)而 UmALB 正常或轻微升高(<正常值上限的 4.5 倍),提示可能存在大量的小分子蛋白。经尿蛋白电泳检测,尿中游离轻链含量均>80%,进一步使用本周氏蛋白电泳技术进行检测。4 例标本中 3 例分型为单克隆游离 λ 轻链、1 例为单克隆游离 κ 轻链,考虑为血液系统浆细胞增殖性疾病继发肾损

害。对于类似的肾功能不全患者,尿中 UmALB%远远<50%,提示需对标本进行尿蛋白电泳检测→尿本周氏蛋白电泳检测→尿轻链定量检测,有助于提高诊断效能,应在临床进行积极推广。

本研究发现,当 UmALB%<50%,排除 UTP、UmALB 均正常无临床意义结果,尿蛋白电泳筛查肾小管性蛋白尿阳性率为 72.9%,应引起足够的关注。SDS 包被尿液蛋白,屏蔽电荷的影响,所有蛋白均按分子质量不同向阳极涌动,从而达到分离尿中蛋白质的目的。当肾小球通透性增加或滤膜缺损时,尿中出现中、大分子蛋白,称为肾小球性蛋白尿;当肾小管受损时,肾小管重吸收功能减弱,尿中出现中、小分子蛋白,称为肾小管性蛋白尿^[9]。肾损伤早期多以肾小管性蛋白尿及溢出性蛋白尿为主,尿中蛋白质类型及含量反映肾脏损伤程度^[10-14]。尿蛋白定量结果出现 UmALB%<50%的结果并且 UTP、UmALB 同时升高或仅 UTP 升高,通过尿蛋白电泳技术反映肾损伤部位及程度,能够达到早期发现、早期治疗的目的。由于尿蛋白电泳操作简便、易取材、无创伤性等优点^[11],对肾脏的早期损伤程度及其损伤部位的明确诊断、疗效监测方面有着重要的临床意义,而且有资料表明,尿蛋白电泳与肾活检结果相符^[12],因此,尿蛋白电泳已不失为替代肾病理活检的理想检测方法。

4 结 论

当 UTP、UmALB 定量中出现 UTP 定量升高并且 UmALB%<50%进行尿蛋白电泳检测,进而明确尿中蛋白质类型,特别是在判断尿中蛋白是否以小分子蛋白为主方面对临床有极大的帮助,应加强其在临床的应用。

参考文献

[1] 程中应,胡芳,汪宏良. 肾病患者尿液蛋白质含量与电泳

结果相关性研究[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(6): 619-620.

[2] 张玲, 黄俊, 黄杰, 等. 联合检测尿总蛋白和尿微量清蛋白的意义初探[J]. 四川省卫生管理干部学院院报, 2002, 21(1): 9-10.

[3] LARRENCE G M, BREWER D B. Normal urinary protein composition in the female wistar rat and its relationship to the proteinuria induced by intraperitoneal bovine albumin[J]. Clin Sci (Lond), 1981, 60(6): 693-702.

[4] 张亚莉, 高伟, 郝大鹏, 等. 尿蛋白定量在肾病综合征诊断中的意义[J]. 中国综合临床, 2012, 28(2): 192-194.

[5] LE BRICON T. Laboratory identification and measurement of urinary proteins[J]. Ann Biol Clin (Paris), 2002, 60(5): 525-540.

[6] 张小玲, 杨丽媛, 谭晓明, 等. 尿蛋白电泳在小儿肾病诊断中的应用价值[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(2): 279-281.

[7] 周樱, 赵江燕, 钱厚明, 等. 非浓缩尿蛋白电泳、尿微量清蛋白和尿蛋白联合检测对糖尿病早起肾损伤的诊断意义[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(9): 437-438.

[8] LE BRICON T, ERLICH D, BENGOUFA D, et al. Sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis of urinary proteins; application to multiple myeloma[J]. Clin Chem, 1998, 44(6 Pt 1): 1191-1197.

[9] 邵东泉. 尿蛋白电泳在蛋白尿中的临床应用[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(9): 2365-2366.

[10] COHEN S M, OHNISHI T, CLARK N M, et al. Investigations of rodent urinary bladder carcinogens: collection, processing, and evaluation of urine and bladders[J]. Toxicol Pathol, 2007, 35(3): 337-347.

[11] 葛玲, 王先侠, 吴信宏. 93 例肾脏疾病患者 SDS-AGE 非浓缩尿蛋白电泳分析[J]. 临床输血与检验, 2013, 15(3): 216-218.

[12] 栗群英, 徐万清, 龚阳彬, 等. 非浓缩尿蛋白电泳在肾脏疾病诊断中的临床应用[J]. 西南军医, 2007, 9(6): 59-60.

[13] 孔宪涛. 肾脏疾病免疫学诊断方法的研究与应用[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(5): 261-262.

[14] 吴宇芳, 关晓东. 肾脏病患者尿蛋白电泳测定及其病理活检对比分析[J]. 现代预防医学, 2007, 34(4): 873-874.

(收稿日期: 2018-04-26 修回日期: 2018-07-28)

• 短篇论著 •

血清样本的保存条件对 ELISA 法检测封闭抗体结果的影响

简少珍, 吴 英[△]

(广东省佛山市中医院检验医学中心, 广东佛山 528000)

摘要:目的 分析不同条件下保存血清样本对酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测封闭抗体结果的影响。方法 收集 2016 年 3 月至 2017 年 3 月就诊于该院妇科的 264 例正常早孕和初孕妇女为研究对象, 采集其血清样本, 依据不同保存时间和温度分为 4℃ 保存 1 周(1 周组)、-20℃ 保存 1 个月(1 月组)、-20℃ 保存 3 个月(3 月组)、-20℃ 保存 6 个月(6 月组)共 4 组, 应用 ELISA 法检测封闭抗体。结果 各组 BA 阳性检出率分别为 48.9%(129 例)、51.1%(135 例)、51.8%(137 例)、53.4%(141 例), 其总体差异无统计学意义($\chi^2=1.137, P=0.768>0.05$)。1 月组、3 月组和 6 月组分别与对照组定性结果一致性比较, 其 Kappa 系数分别为 0.955、0.909、0.864, 一致性程度均为极强(K 值>0.8)。各组 BA 定量结果的秩均值分别为 1.77、2.37、2.51、2.84, 其总体差异有统计学意义($\chi^2=217.129, P<0.001$); 1 月组、3 月组、6 月组各组分别与 1 周组比较, 其差异均有统计学意义($Z=-5.946, -4.996, -4.903, P<0.001$); 3 月组和 6 月组分别与 1 月组定量结果比较, 其差异有统计学意义($Z=-7.892, -8.456, P<0.001$); 3 月组与 6 月组定量结果比较, 差异无统计学意义($Z=-1.075, P=0.282>0.008$)。结论 在实际工作中, 应用 ELISA 法定量检测 BA 时应尽可能在 1 周内完成, 如不能及时检测, 应在 1 个月内检测完毕; 对于定性检测, 于 -20℃ 保存 6 个月可保持结果的稳定。

关键词: 抗体, 封闭; 低温保存; 时间; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.037 中图法分类号: R446.6; R197.39

文章编号: 1673-4130(2018)23-2985-03 文献标识码: B

妊娠是成功的半同种器官移植^[1]。然而现代女性由于各种因素的影响, 导致无法正常妊娠, 出现自然流产越来越多见。自然流产的病因复杂, 约半数的患者找不到明确的病因, 且不明原因者多数为免疫因素, 其中封闭抗体(BA)越来越受到关注, BA 具有保

护胎儿宫内不受外界因素干扰的作用^[2]。母体能正常维持妊娠, 与母体免疫耐受及其他免疫调节作用有直接关系。免疫调节作用之一就是特异性抗体的封闭效应, 即 BA^[3-4]。2015 年有研究报道不同育龄妇女人群中血清 BA 的检测结果, 该研究认为育龄期妇女

[△] 通信作者, E-mail: ddzz118@126.com.

本文引用格式: 简少珍, 吴英. 血清样本的保存条件对 ELISA 法检测封闭抗体结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23): 2985-2986.