

重复综合征还需要更多的数据评估和验证。

参考文献

[1] MCDONALD-MCGINN D M, SULLIVAN K E, MARI-NO B, et al. 22q11. 2 deletion syndrome[J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 19(1): 15071.

[2] WAPNER R J, MARTIN C L, LEVY B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. N Engl J Med, 2012, 367(23): 2175-2184.

[3] GRATI F R, GOMES D M, DUPONT C, et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9 500 pregnancies[J]. Prenat Diagn, 2015, 35(8): 801-809.

[4] YANG Y, MUZNY D M, REID J G, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders[J]. N Engl J Med, 2013, 369(16): 1502-1511.

[5] NORMAND E A, BRAXTON A, NASSEF S, et al. Clinical exome sequencing for fetuses with ultrasound abnormalities and a suspected Mendelian disorder[J]. Genome Med, 2018, 10(1): 74.

[6] FU F, LI R, LI Y, et al. Whole exome sequencing as a diagnostic adjunct to clinical testing in fetuses with structural abnormalities[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2018, 51(4): 493-502.

[7] PETROVSKI S, AGGAWAL V, GIORDANO J L, et al.

• 个案分析 •

Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study[J]. Lancet, 2019, 393(10173): 758-767.

[8] LORD J, MCMULLAN D J, EBERHARDT R Y, et al. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study[J]. Lancet, 2019, 393(10173): 747-757.

[9] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. Genet Med, 2015, 17(5): 405-424.

[10] MORROW B E, MCDONALD-MCGINN D M, EMANUEL B S, et al. Molecular genetics of 22q11. 2 deletion syndrome [J]. Am J Med Genet A, 2018, 176(10): 2070-2081.

[11] HACIHAMDIOĞLU B, HACIHAMDIOĞLU D, DELIL K. 22q11 deletion syndrome: current perspective[J]. Appl Clin Genet, 2015, 8: 123-132.

[12] BEST S, WOU K, VORA N, et al. Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing[J]. Prenat Diagn, 2018, 38(1): 10-19.

[13] 张彦. 医学外显子组测序检测遗传病拷贝数变异的初步探索[J]. 中山大学学报(医学版), 2019, 40(1): 144-149.

(收稿日期: 2020-10-23 修回日期: 2021-03-20)

1 例血、尿免疫固定电泳图谱不一致的处理与分析

成 平, 周 翔, 张三勇, 姜文玲, 许向青, 朱雪婧, 夏运成

中南大学湘雅二医院肾内科/肾脏疾病与血液净化学湖南省重点实验室, 湖南长沙 410011

关键词: 单克隆免疫球蛋白; 免疫固定电泳; 游离轻链; β 巯基乙醇  
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2021. 16. 030  
文章编号: 1673-4130(2021)16-2043-03

中图法分类号: R446. 1  
文献标志码: C

近年来, 单克隆免疫球蛋白(M 蛋白)相关疾病逐渐受到临床医生的关注与重视, 涉及科室广泛, 除血液科、肾内科对相关检查有较深了解外, 大部分科室(如心内科、神经内科、消化内科、脊柱外科、老年病科、风湿免疫科等)对 M 蛋白检测技术和结果解读知之较浅, 以致不能精准判断患者的病情进展及疗效。免疫固定电泳是利用区带电泳的分离作用与抗体特异性免疫沉淀标记作用相结合的定性检测技术, 是目前对 M 蛋白检测与分型应用最多、最广的技术<sup>[1-2]</sup>。免疫固定电泳结果的解读存在较多主观因素, 需要检验技术人员具有扎实的理论基础知识和丰富的阅片经验。本文拟借助 1 例不常见免疫固定电泳结果的处理与分析, 以期提高临床、检验相关人员对 M 蛋白检测技术的深入了解和重视, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者, 女, 57 岁, 发现无诱因双下肢

水肿半月余。门诊检查示: 尿蛋白定性 4+, 血清蛋白 36. 9 g/L, 血肌酐 55. 1 μmol/L, 以“蛋白尿待查”收入中南大学湘雅二医院肾内科。否认肝炎、结核等急慢性传染病史, 否认高血压及心脏病史, 否认糖尿病及肾脏病史, 无外伤及手术史, 无药物过敏史, 无输血史, 预防接种史不详。查体: 体温 36. 5 ℃, 脉搏 86 次/分, 呼吸 20 次/分, 血压 122/78 mm Hg。精神可, 查体合作, 问答切题, 其他查体无阳性指征。

1.2 方法

1.2.1 免疫固定电泳 采用美国海伦娜(Helena)公司的全自动电泳仪 spife3000 及其原装免疫固定电泳试剂盒, 按照标准操作规程对血清、尿液标本分别进行电泳和结果分析。β 巯基乙醇处理: 常规处理血清标本的 β 巯基乙醇浓度为 1%, 处理时间 15~20 min。本文采用 β 巯基乙醇处理尿液标本, 为避免稀释尿液标本, 采用 798 μL 尿液标本加入 2 μL β 巯基乙醇(硫

基乙醇终末浓度为 0.25%),混匀静置 15 min,再按常规尿液免疫固定电泳操作。

**1.2.2 游离轻链定量** 采用美国贝克曼公司全自动特定蛋白分析仪 IMMAGE800 及英国 BINDING SITE 原装进口游离轻链试剂盒,以免疫比浊法进行游离轻链定量检测。

**1.2.3 其他** 生化检测采用罗氏 7600 生化仪及配套试剂,免疫全套检测采用 IMMAGE800 及配套试剂,尿液蛋白检测采用西班牙 BioSystems 公司全自动特定蛋白仪 BA400 及配套原装试剂。

## 2 结 果

**2.1 患者血清和尿液常规免疫固定电泳图谱** 血清常规免疫固定电泳图谱 λ 泳道可见特异性浓集条带, G、A、M 泳道未见特异性条带。电泳图谱结果显示, M 蛋白阳性,分型待定,免疫固定电泳需要进一步完善 IgD、IgE 及 fλ。尿液常规免疫固定电泳图谱所有泳道未见特异性浓集条带, M 蛋白阴性。见图 1。

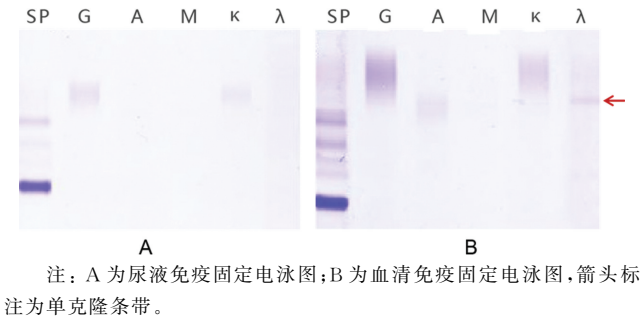
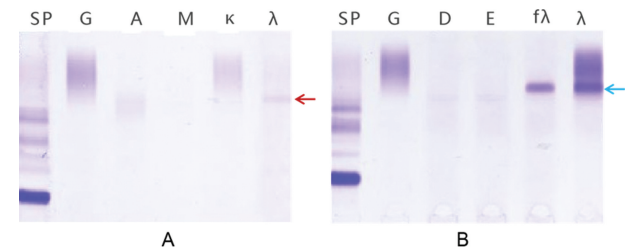


图 1 血清和尿液常规免疫固定电泳图谱

**2.2 患者免疫球蛋白结果** IgG:4.49 g/L(7.51~15.60 g/L), IgA:0.53 g/L(0.82~4.53 g/L), IgM:0.29 g/L(0.46~3.04 g/L), IgE:271.90 ng/L(0.00~691.40 ng/L)。本实验室常规开展血清游离轻链(FLC)定量检测,该患者血清游离定量结果 κ-FLC:6.9 mg/L, λ-FLC:535 mg/L, κ-FLC/λ-FLC:0.01, dFLC:525.1 mg/L。

**2.3 患者血清常规与非常规免疫固定电泳图谱** λ 泳道可见浓集条带,但性质不明,之后血清免疫固定电泳加做了抗重链 δ(IgD)、抗重链 ε(IgE)、抗 fλ。D、E 泳道未见蛋白浓集条带, fλ 泳道出现了与 λ 泳道浓集条带同水平位置阳性条带,见图 2。

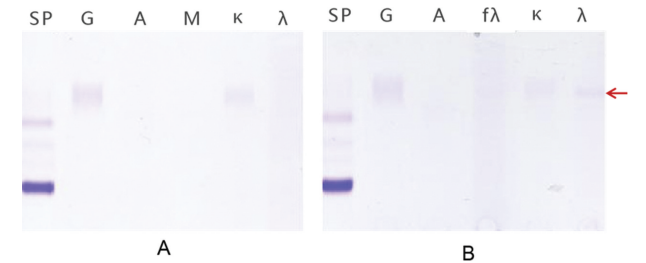


注:A 为血清常规免疫固定电泳图(SP 泳道血清标本为 1:3 稀释, G、A、M、κ、λ 泳道为 1:5 稀释);B 为血清非常规免疫固定电泳(SP 和 G 泳道血清标本为 1:3 稀释, D、E、fλ、λ 泳道为未稀释血清)。

图 2 患者血清常规与非常规免疫固定电泳图谱

**2.4 尿液免疫固定电泳图谱** 尿液中的轻链蛋白分子容易发生聚合而形成二聚体、三聚体、四聚体等,从

而导致单克隆的轻链蛋白在电泳图谱上呈弥散分布。鉴于此,特对患者晨尿液标本采用 β 巯基乙醇(终末浓度为 0.25%)处理,最终尿液免疫固定电泳图谱上 λ 泳道出现了弱阳性的浓集条带,但 fλ 泳道仍未见浓集条带,见图 3。



注:A 为未处理尿液免疫固定电泳图谱;B 为 β 巯基乙醇处理后的尿液免疫固定电泳图谱(箭头处为弱阳性特异性浓集条带)。

图 3 尿液未处理和 β 巯基乙醇处理后免疫固定电泳图谱

**2.5 尿液标本经 β 巯基乙醇处理前、后游离轻链定量结果** 鉴于尿液标本的常规免疫固定电泳与 β 巯基乙醇处理后的免疫固定电泳图谱结果不一致,特检测了处理前、后 2 份尿液标本的游离轻链浓度。结果显示,2 份尿液标本的 λ-FLC 浓度相差近 1 倍,见表 1。

表 1 尿液标本经 β 巯基乙醇处理前、后游离轻链定量结果

组别	κ-FLC (mg/L)	λ-FLC (mg/L)	κ-FLC/ λ-FLC	dFLC (mg/L)
处理前	79.7	31.9	2.5	47.8
处理后	72.1	16.8	4.3	55.3

**2.6 患者肾穿刺活检病理结果** 免疫荧光(石蜡): IgG(3+), C1q(3+), IgA(-), IgM(-), C3(-), FIB(-);肾小球:κ(+)阶段性沉积于系膜、λ(3+)线性沉积于毛细血管袢;肾间质:κ(-)、λ(3+)沉积于肾间质。刚果红染色:阳性。病理结果提示 λ 轻链型肾淀粉样变。

## 3 讨 论

M 蛋白是骨髓前 B 细胞恶性增殖产生的一种均一性 M 蛋白,依据免疫球蛋白结构分为:完整型 M 蛋白、游离轻链型 M 蛋白、重链型 M 蛋白(极其罕见)[3-4]。临床检验中,利用免疫固定电泳技术检测 M 蛋白时需要同时检测血清和尿液标本,血清免疫固定电泳主要用于检测完整型 M 蛋白,尿液免疫固定电泳主要用于检测轻链型 M 蛋白。

该患者的常规血清免疫固定电泳 λ 泳道出现了阳性条带,免疫固定电泳排查 IgD 和 IgE 均为阴性,而 fλ 出现了与 λ 同水平位置的阳性条带,说明该患者血清中的 M 蛋白是 λ 型游离轻链,血清游离轻链定量结果也佐证了这一结论。肾脏病理免疫荧光显示肾小球肾间质 λ 限制性沉积,刚果红染色阳性明确淀粉样变性,轻链 λ 型 M 蛋白阳性也符合临床病理诊断[4-6]。

轻链  $\kappa$  和  $\lambda$  蛋白相对分子质量分别为  $220\ 00\times 10^3$  和  $44\ 000\times 10^3$ , 血清中的轻链蛋白可以直接通过肾小球滤过漏入尿液中, 所以对轻链型 M 蛋白尿液免疫固定电泳检出率更高。该患者血清免疫固定电泳能检出游离轻链型 M 蛋白, 理论分析应该会有一些量的游离轻链溢出至尿液中, 而该患者的尿液免疫固定电泳图谱未见 M 蛋白浓集条带。本文分析尿液免疫固定电泳阴性有两种可能的解释: 一方面, 肾小管对轻链蛋白有一定的代谢能力, 溢出的轻链蛋白被肾小管代谢后浓度降低, 低于电泳的最低检测限; 另一方面, 溢出的轻链蛋白分子在尿液中形成聚合体, 不同相对分子质量的聚合体在凝胶区带电泳作用下成弥散条带, 且轻链蛋白形成各种聚合体后, 也弱化了单体的浓度, 从而可能低于电泳的最低检测限。所以该患者的尿液免疫固定电泳图谱未见特异性浓集条带。

$\beta$  巯基乙醇是电泳中常用的蛋白解聚液, 用来解离蛋白分子形成的聚合体。 $\beta$  巯基乙醇处理后的免疫固定电泳图谱  $\lambda$  泳道出现了弱浓集条带, 尿液原本存在的 M 蛋白显现出来, 这一结果符合尿液中的轻链蛋白发生聚合的推论。 $\beta$  巯基乙醇处理前、后尿液游离轻链定量结果相差近 1 倍, 本文分析可能是由于聚合体与单体形式的轻链分子存在空间构象不同, 导致与检测抗体试剂结合时存在差异, 以致定量结果存在偏差。 $\lambda$  泳道未出现  $\lambda$  泳道同位置的浓集条带, 是否是抗体的结合能力强弱差异导致未能检测到轻链蛋白, 有待进一步讨论和证实。

本文病例提示, 免疫固定电泳技术存在多变性, 需要扎实的操作技术和丰富的阅片经验才能综合分析得出可靠结论<sup>[7]</sup>。免疫固定电泳技术在 M 蛋白检测中应用广泛, 但具有一定的检测局限性, 对于低浓度 M 蛋白和非分泌型多发性骨髓瘤患者存在漏检<sup>[6]</sup>。

FLC 定量检测因其特异性和灵敏度高而备受关注, 是多发性骨髓瘤诊疗指南中 1 项重要的评判指标<sup>[8]</sup>。FLC 定量及其比值对多发性骨髓瘤有很大的

• 个案分析 •

诊断及进展评估价值, 对于轻链型 M 蛋白和非分泌型多发性骨髓瘤患者, FLC 的差值也是较好的疗效评估指标。免疫固定电泳技术和游离轻链定量联合检测能大大提高临床对 M 蛋白相关疾病的诊治水平<sup>[9]</sup>。

## 参考文献

- [1] 潘建华, 张玲, 李艳红, 等. 3 种方法筛查 M 蛋白的结果分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(17): 2479-2481.
- [2] 蒋最明, 顾敏, 苏薇. 毛细管区带电泳对 M 蛋白的免疫分型[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(2): 72-73.
- [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(2020 年修订)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(5): 341-346.
- [4] 白志瑶, 戴宏斌, 尹春琼, 等. 双克隆型多发性骨髓瘤 4 例临床及实验室综合分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(2): 234-237.
- [5] KAPLAN B, MARTIN B M, BOYKOV O, et al. Co-deposition of amyloidogenic immunoglobulin light and heavy chains in localized pulmonary amyloidosis[J]. Virchows Arch, 2005, 447(4): 756-761.
- [6] 赵冬慧, 李丹阳, 张帆, 等. 4 例重链或轻链肾淀粉样变性患者的临床病理特点[J]. 北京大学学报(医学版), 2020, 52(6): 1162-1165.
- [7] 苏薇, 高学慧, 韩建华, 等. 四种分析技术检测血清单克隆免疫球蛋白的比较[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(3): 261-264.
- [8] 蒋翔宇, 陈俊峰, 汪勇. 血清游离轻链  $\kappa/\lambda$  比值联合免疫固定电泳在多发性骨髓瘤患者预后评估中的价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(1): 191-195.
- [9] 马成成, 王鑫, 高英, 等. 免疫球蛋白重轻链检测在浆细胞疾病中的应用进展[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(24): 3064-3069.

(收稿日期: 2020-10-26 修回日期: 2021-03-17)

# 抗髓过氧化物酶抗体及抗蛋白酶 3 抗体双阳性的 ANCA 相关性血管炎 1 例

臧福宇, 朱文波, 陶月, 宁明哲<sup>△</sup>

南京大学医学院附属鼓楼医院检验科, 江苏南京 210008

关键词: 抗中性粒细胞胞浆抗体相关性血管炎; 抗髓过氧化物酶抗体; 抗蛋白酶 3 抗体

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2021. 16. 031

中图法分类号: R446. 1

文章编号: 1673-4130(2021)16-2045-04

文献标志码: C

抗髓过氧化物酶(MPO)抗体和抗蛋白酶 3(PR3)

抗体双阳性的病例在临床和实验室工作中罕见。本

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 54669182@qq. com。

本文引用格式: 臧福宇, 朱文波, 陶月, 等. 抗髓过氧化物酶抗体及抗蛋白酶 3 抗体双阳性的 ANCA 相关性血管炎 1 例[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(16): 2045-2048.