DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.07.025
第25卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 7
2003年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2003

文章编号:1000-5404(2003)07-0623-02

论著

免疫固定电泳技术在鉴定M蛋白上的应用

张志成[1],杨 沛[1],黄维佳[2] ([1]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042;[2]重庆医科大学第一附属医院检验科,重庆 400016)

提 要:目的 探讨免疫固定电泳技术在鉴定M蛋白上的应用。方法 采用琼脂糖凝胶免疫固定技术(IFE)和速率散射比浊法检测了43例病人和20例正常健康人血清M蛋白。结果 其中29例病人检出M蛋白,M蛋白分型为IgGκ型20例,IgGλ型5例,IgMκ型2例,IgAλ型1例,单纯λ型1例;14例其它疾病未检出M带。结论 采用免疫固定电泳技术,沉淀带易识别,操作简单、快速。对鉴定各类型M蛋白有重要价值。

关键词:免疫固定电泳;M蛋白;免疫球蛋白
中图法分类号:R341.6;R446.62 文献标识码:A

Significance of immunofixation electrophoresis in the identification of M proteins

ZHANG Zhi-cheng, YANG Pei, HUANG Wei-jia (Department of Medical Laboratory, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To study the application of immunofixation electrophoresis (IFE) in typing M proteins. **Methods** Serum M proteins were detected in 43 patients and 20 normal controls by agarose gel IFE and rate nephelometery. **Results** Of 43 patients, 29 were affirmed to have M proteins, including 20 cases of IgG κ, 5 IgG λ, 2 IgM κ, 1 IgA λ and 1 λ. **Conclusion** The technology of IFE, characterized by easy differentiation of electrophoretic bands, simple operation and rapidity, has great value in typing M proteins.

Key words: immunofixation electrophoresis; M proteins; immunoglobin

M蛋白(Monoclonal immunoglobulin)是浆细胞异常增生而分泌的一种单克隆免疫球蛋白,多见于多发性骨髓瘤(Multiple myeloma, MM)。1964年报道了免疫固定电泳技术(Immunofixation electrophoresis, IFE),经过多年的发展现在IFE被广泛地用于如补体C_3、C_4裂解产物[1,2]、M蛋白及亚类等的检测[3]。M蛋白IFE包括琼脂糖凝胶蛋白电泳和免疫沉淀两个过程。现报告IFE和速率散射比浊法检测43份MM病人及其他疾病以及20名健康人血清的结果。

1 材料和方法

1.1 研究对象

第三军医大学附属大坪医院住院病人31例,重庆医科大学第一附属医院住院病人12例,共计43例。其中27例为MM,1例浆细胞白血病,1例巨球蛋白血症,其它病例14例,男性28例,女性15例,年龄27~77岁,平均58.3岁。

对照组:健康体检人员20名,男性13例,女性7例,平均年龄32.6岁。

1.2 试剂

免疫球蛋白定量抗血清IgG,IgA,IgM,抗κ,抗λ及配套试剂购自美国Beckman公司,免疫固定电泳使用法国Sebia公司2 IF试剂盒。

1.3 仪器

全自动特种蛋白分析系统(Array protein system, Beckman公司);全自动电泳仪Hydrasys(法国Sebia公司)。

1.4 方法

1.4.1 免疫球蛋白及轻链定量检测 采用速率散射比浊法,按仪器说明操作。

1.4.2 IFE检测血清M蛋白 ①电泳:样品经适当比例稀释后,分别加至加样梳的6个孔内。于仪器上20 ℃,300 V电泳6 min。②孵育:于专用塑料架内孔内加入蛋白固定剂,抗IgG,IgA,IgM,及抗κ,抗λ血清沿电泳方向扩散后,分别直接覆盖于六条蛋白区带上。20 ℃孵育5 min。③干燥:用纸吸干多余的抗血清,分别于40 ℃干燥3 min,56 ℃干燥6 min。此时琼脂糖凝胶被烘干成一层薄膜紧贴于其支撑的胶片上。④冲洗,染色,及脱色:电泳胶片置于仪器舱内,选择相应的程序后仪器自动完成,需时33 min。

2 结果

2.1 正常人IFE图

正常健康人在γ区的沉淀带呈弥散的浅染分布,见图1。

2.2 病人IFE图

呈狭窄,浓染,界限分明的沉淀带即为M带,重链及轻链的M带与蛋白电泳的M带处于同一水平位置,呈"镜像式"呼应,见图2。

作者简介:张志成(1962-),男,四川省巴中市人,主管技师,主要从事自身免疫性疾病的检测方法方面的研究。电话:(023)68757272

收稿日期:2002-08-27;修回日期:2003-01-27

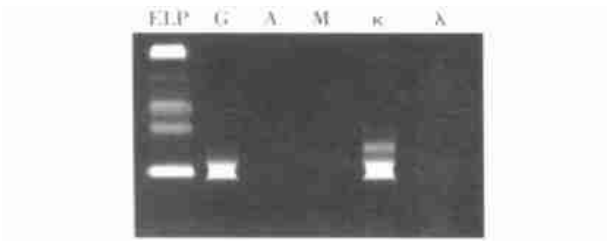
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



ELP, G, A, M, κ, λ represent protein, IgG, IgA, IgM, κ and λ respectively

图1 正常IFE图

Fig 1 Normal IFE image



ELP, G, A, M, κ, λ represent protein, IgG, IgA, IgM, κ and λ respectively

图2 IgGκ MM患者IFE图

Fig 2 The IFE image of IgGκ MM patient

2.3 29例M蛋白的固定免疫电泳分型结果

29例M蛋白的固定免疫电泳分型以IgG最多,其中κ最为常见,见表1。

表1 29例M蛋白症患者的IFE分型结果

Tab 1 The results of IFE types of 29 cases of patients with M protein

Immunity type	Cases	κ	λ
IgG	25	20	5
IgA	1	1	0
IgM	2	2	0
Light chain	1	0	1

2.4 43例病人及20例正常人Ig及轻链检测结果见表2

表2 43例病人及20例对照Ig及轻链检测结果(ρ_B/g·L^{-1})

Fig 2 The determination results of Ig and light chain in 43 patients and 20 normal controls(ρ_B/g·L^{-1})

Type	Cases	IgG	IgA	IgM	κ	λ
IgG κ	20	33.50~122.00	0.85~2.19	0.79~1.74	19.65~108.42	0.96~2.22
IgG λ	5	27.43~115.72	0.79~2.86	0.82~2.46	0.76~5.78	18.12~108.41
IgM κ	2	5.42~8.66	1.13~2.09	23.54~46.75	24.65~48.32	2.13~3.55
IgA λ	1	4.77	51.89	2.02	1.03	55.56
Purely λ	1	13.42	2.65	2.07	0.94	25.78
Other diseases	14	5.95~41.15	1.02~7.33	1.14~5.85	6.07~24.52	3.06~13.98
Control	20	7.85~15.71	1.12~3.24	1.23~3.42	5.38~11.29	3.25~6.19

3 讨论

免疫固定电泳(IFE)是一种包括蛋白电泳和免疫沉淀的两个过程,把电泳图形固定在支持物上。该技术的最大优势是敏感性达到50~150 mg/dl,操作周期短,全程只需要2 h,分辨率高,结果易于分析,主要用于临床上有M蛋白的病人进行分型与鉴定。

M蛋白是恶性浆细胞在骨髓内无限制的增殖并产生的单克隆免疫球蛋白,此蛋白在电泳中呈现基底较窄而均匀的单峰,也称之副蛋白[4]。

M蛋白的检测是浆细胞与B淋巴细胞增殖疾病实验室检测的一个重要方面,它的出现与浆细胞恶性增殖密切联系[5]。本实验检测到M蛋白中,29例是MM患者,2例巨球蛋白血症,1例浆细胞白血病,其病因都源于浆细胞的恶性增殖,使其单克隆成分增多,另外,由于上述疾病的浆细胞呈点状增生,病理检查难免出现不确定因素。利用蛋白电泳呈现M蛋白,仍然不能区别此类疾病,如巨球蛋白血症,主要是单克隆IgM增多,须用免疫固定电泳做进一步确认,通过本实验表明,对临床上免疫球蛋白升高和出现M蛋白的病例,用免疫固定电泳技术对Ig分型,结合临床,可以明确诊断。

IFE由于蛋白直接与抗血清作用,在原位形成抗原抗体复合物,提高了检测灵敏度[6],本实验所检出的M蛋白含量最高达122 g/L,最低为3.5 g/L,只要有M蛋白,用IFE法均能检出,正由于灵敏,本实验观察了1例MM病人,治疗前IgG 69.8 g/L,治疗后IgG 9.5 g/L,IFE图像M带无位置改变,这可能与未完全杀灭的瘤细胞继续分泌M蛋白有关。

14例其他疾病患者虽然有IgG及轻链的升高,最高达41.15 g/L,但IFE均未出现M带,说明其相关性好[7]。正常人产生的免疫球蛋白的浆细胞是多克隆性质的,合成的免疫球蛋白除5种不同的重链外,再用轻链分型只有κ和λ两种。一个克隆的浆细胞只产生2种轻链的一种,每个个体2种轻链的免疫球蛋白之比大约1.9,在多克隆时,Ig绝对值增加,但比率正常[4,7,8]。当发生单克隆Ig异常时,比率遭破坏。在实验中,κ/λ=3.3,平衡破坏,支持其对M蛋白症的诊断。

综上所述,运用IFE技术,结合速率散射比浊法,加快M蛋白血症的诊断,而且特异性,敏感性及相关性较好,优于PE,SDS-PAGE,IE等方法,所以在鉴定M蛋白血症有较高的应用价值。

参考文献:

[1] 柴庆渭. 免疫固定电泳检测C3裂解产物[J]. 临床检验杂志, 1988, 6(1): 16-20.

[2] 吴宝珍, 张爱萍, 吴丽杲. 免疫固定检测C4裂解产物[J]. 临床检验杂志, 1995, 13(2): 78.

[3] Klouche M, Bradwell A R, Witheim D, *et al*. Subclass typing of IgG preparations by immunodfixation electrophoresis[J]. Chin Chem, 1995, 41(10): 1475-1476.

[4] 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, 12.

[5] 李 勇. 副蛋白血症的实验室研究[J]. 国外医学临床生物化学及检验学分册, 2001, 22(3): 158-159.

[6] 周 晖, 王 丁. 免疫固定电泳技术在鉴定多发性骨髓瘤M蛋白上的应用[J]. 实用预防医学, 1996, 6(3): 184-186.

[7] 孔宪涛. 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. 194-208.

[8] 魏 俊. 多发性骨髓瘤20例临床诊断与治疗体会[J]. 上海医学, 1993, (4): 236.

(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net