

· 临床研究 ·

免疫固定电泳法检测尿本周蛋白的临床应用

曾祝伦¹, 张司兰², 熊曼¹

(1. 重庆医科大学附属第二医院检验科 400010; 2. 重庆市璧山县人民医院心血管内科 402760)

摘要:目的 探讨免疫固定电泳检测尿本周蛋白(BJP)的临床价值。方法 采用免疫固定电泳及热沉淀反应法检测尿液 BJP, 并比较二者的灵敏度和特异性。结果 140 例晨尿样本用免疫固定电泳检测, 检出尿 BJP 阳性 42 例, 其中 IgG κ 型 BJP 26 例, IgM λ 型 BJP 16 例; 用热沉淀反应法检测, 检出尿 BJP 阳性 24 例。76 例十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶电泳(SDS-AGE)提示尿蛋白异常的样本经免疫固定电泳的 BJP 检出率为 55.3%, 热沉淀反应法的检出率为 31.6%。结论 免疫固定电泳检测尿 BJP 具有较高的灵敏度和特异性。

关键词: 本周蛋白; 免疫电泳; 免疫球蛋白类

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.08.013

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)08-0762-02

Clinical application of immunofixation electrophoresis detection of urine Bence-Jones protein

Zeng Zhulun¹, Zhang Silan², Xiong Man¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Bishan People's Hospital of Chongqing, Chongqing 402760, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical value of immunofixation electrophoresis detection of urine Bence-Jones protein (BJP). **Methods** Immunofixation electrophoresis and thermal precipitation reaction were utilized to detect urine BJP, and their sensitivity and specificity were compared. **Results** 140 samples of morning urine were detected by immunofixation electrophoresis, 42 samples of them were found to be BJP positive, with 26 cases of IgG κ type BJP and 16 cases of IgM λ type BJP. The same 140 samples were detected by thermal precipitation reaction, and 24 samples of them were found to be BJP positive. 76 samples with abnormal urine protein indicated by sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis (SDS-AGE) were subjected to immunofixation electrophoresis and thermal precipitation reaction, respectively, and their BJP detection rate was 55.3% and 31.6%, respectively.

Conclusion Immunofixation electrophoresis possesses higher sensitivity and specificity for urine BJP detection.

Key words: Bence Jones protein; immunoelectrophoresis; immunoglobulins

尿本周蛋白(Bence-Jones protein, BJP)是监测浆细胞病和 B 淋巴细胞增殖性疾病的一个重要指标, 其阳性结果与多发性骨髓瘤的发病密切相关。浆细胞恶性增殖时合成大量 BJP, 其实质是蛋白轻链合成紊乱。BJP 大约由 214 个氨基酸组成, 其结构与正常的免疫球蛋白轻链相同, 有 κ 、 λ 轻链, 具有特殊的热沉淀性质。血清蛋白电泳、免疫球蛋白定量和热沉淀反应等是临床尿 BJP 检测的主要方法^[1], 由于上述方法的影响因素较多^[2], 其特异性和灵敏度不理想, 检测效率低。本文采用免疫固定电泳检测非浓缩尿中的 BJP, 以探讨其临床应用价值。现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂与仪器 主要试剂: 2 mol/L 乙酸缓冲液、200 g/L 磺基水杨酸、尿蛋白电泳试剂盒(法国 Sebia 公司)及免疫固定电泳试剂盒(法国 Sebia 公司)。主要仪器: 全自动电泳仪及扫描仪(法国 Sebia 公司)、AU560 全自动生化分析仪(日本 OLYMPUS 公司)。

1.2 样本 140 例晨尿样本均来自 2004 年 5 月至 2008 年 4 月重庆医科大学附属第二医院的门诊和住院患者, 2~8℃ 保存, 1 周内集中检测。其中多发性骨髓瘤 26 例, 淋巴瘤白血病 20 例, 粒细胞性白血病 12 例, 肾病 60 例, 骨髓移植 2 例, 其他疾病 20 例。

1.3 免疫固定电泳及热沉淀反应法检测 蛋白质在 pH 8.8 巴比妥-巴比妥钠缓冲液中电泳分离。将晨尿样本进行免疫固定电泳和热沉淀反应试验。采用重链 γ (IgG)、 α (IgA)、 μ (IgM), 轻链 κ 、 λ , 游离轻链 κ 、 λ 等 5 种抗血清及蛋白固定液进

行免疫固定, 经蛋白固定液固定的条带将显示电泳后的蛋白质全貌, 并将其作为参考泳道(electrophoresis, ELP)。用结晶紫对沉淀的蛋白进行染色, 多余染料用酸性介质冲洗。将检测结果进行扫描分析。热沉淀反应法参照全国临床检验操作规程进行试验^[3]。

2 结 果

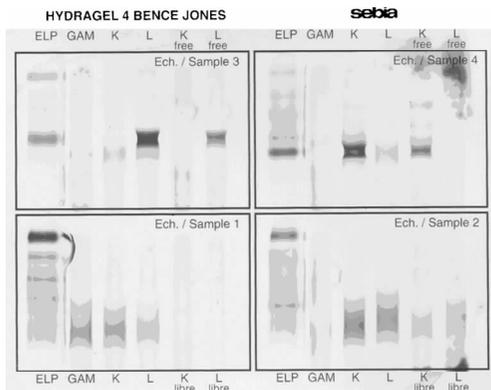
2.1 BJP 免疫固定电泳 采用 Sebia 全自动电泳仪对 140 例晨尿样本进行十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis, SDS-AGE), 76 例存在异常区带, 异常区带的相对分子质量为 25 000 或 50 000。将存在异常区带的 76 例晨尿样本进行 BJP 免疫固定电泳, 发现有 42 例样本中尿 BJP 阳性, 其中 IgG κ 型 BJP 26 例, IgM λ 型 BJP 16 例, 见图 1。热沉淀反应法检测仅有 24 例为尿 BJP 阳性。

2.2 免疫固定电泳检测的灵敏度 免疫固定电泳检测出尿 BJP 阳性的尿蛋白浓度为 20 mg/L, 当浓度达 2 000 mg/L 时, 未发现干扰; 而热沉淀反应法检测出尿 BJP 阳性的尿蛋白浓度达 320 mg/L, 在浓度为 1 280 mg/L 时, 即出现干扰。

2.3 尿蛋白电泳与 BJP 的关系 对 76 例尿蛋白 SDS-AGE 出现异常 BJP 区带的样本进行 BJP 免疫固定电泳。结果显示, 尿蛋白电泳出现异常 BJP 区带的阳性率为 55.3% (42/76), 见表 1。

2.4 免疫固定电泳检测的效率 将 76 例尿蛋白 SDS-AGE 出现异常 BJP 区带的样本采用 BJP 免疫固定电泳和热沉淀反应法分别检测, 结果显示, 免疫固定电泳检测尿 BJP 阳性为 42

例(57.1%),热沉淀反应法检测尿 BJP 阳性为 24 例(31.6%),见表 2。



左上: IgM λ 型 BJP; 右上: IgG κ 型 BJP; 左下、右下: BJP 阴性。

图 1 非浓缩尿蛋白免疫固定电泳图

表 1 非浓缩尿蛋白电泳的效率[n(%)]

| 尿蛋白电泳 | BJP 免疫固定电泳 | | 合计 |
|-------|------------|-----------|------------|
| | 阳性 | 阴性 | |
| 阳性 | 42(55.3) | 34(44.7) | 76(100.0) |
| 阴性 | 0(0.0) | 64(100.0) | 64(100.0) |
| 合计 | 42(30.0) | 98(70.0) | 140(100.0) |

表 2 BJP 免疫固定电泳与热沉淀反应法检测的效率[n(%)]

| 免疫固定电泳 | 热沉淀反应法 | | 合计 |
|--------|----------|-----------|-----------|
| | 阳性 | 阴性 | |
| 阳性 | 24(57.1) | 18(42.9) | 42(100.0) |
| 阴性 | 0(0.0) | 34(100.0) | 34(100.0) |
| 合计 | 24(31.6) | 52(68.4) | 76(100.0) |

3 讨论

BJP 是一种单克隆游离免疫球蛋白轻链,具有特殊的热沉淀性质,因此实验室主要以热沉淀反应法检测尿 BJP。本研究结果显示采用热沉淀反应法,尿 BJP 的检出率仅为 31.6%。由于该法检测灵敏度低(尿蛋白浓度为 320 mg/L 时显示尿 BJP 阳性,而尿蛋白浓度为 1 280mg/L 即出现干扰),因此,将其用于 BJP 的过筛试验存在较大的漏检率。

由于机体某个克隆发生病变而分泌大量单一、均质的单克隆蛋白,又称 M 蛋白。多发性骨髓瘤、Waldenstrom's 巨球蛋白血症、白血病和淋巴瘤等疾病均伴有单克隆 B 细胞的增殖,后者产生大量完整的免疫球蛋白分子和蛋白轻链^[4]。在疾病初期,这些蛋白轻链(相对分子质量为 25 000)被肾小球滤出后在肾小管分解代谢,使尿 BJP 常呈阴性。随着肿瘤的增大,合成的自由轻链增多,并超过肾小管的重吸收能力,造成 BJP 在肾小管中与游离钙结合、沉淀,在肾小球毛细血管中淤积,导致肾单位破坏、肾功能减退,出现蛋白尿、管型尿,甚至血尿。免疫固定电泳是一种灵敏度、特异性较高的分离及鉴定蛋白质的方法^[5]。靶抗原在载体上电泳后,将抗血清直接作用于待检蛋白,可对待检样本中的蛋白成分进行鉴别。同时,免疫固定电泳不仅可用于 M 蛋白的分型,还可对存在 M 蛋白的患者进行早期诊断,其灵敏度、特异性优于骨髓细胞检查。由于多发性骨髓瘤患者的浆细胞呈点性增殖,骨髓细胞形态学检查的病理取样存在较大的不确定性^[6],往往要在患者中、晚期进

行多部位、多次骨穿,且瘤细胞大小超过正常 10.0%才可作出诊断,而免疫固定电泳可弥补这方面的不足^[7]。本研究将样本进行免疫固定电泳,ELP 显示电泳后的蛋白质全貌,其余 5 条泳道鉴定单克隆成分,通过他们与重链 γ(IgG)、α(IgA)、μ(IgM),轻链 κ、λ 及游离轻链 κ、λ 这 5 种抗血清是否反应进行成分鉴别^[8]。

本研究发现,出现异常区带的样本中 BJP 检出阳性率为 55.3%,仍有 44.7%为假阳性,这与某些小分子蛋白(如 α₁ 球蛋白)也可出现该条带有关。因此,SDS-AGE 尿蛋白电泳只能作为筛选异常蛋白的方法,若出现异常电泳区带,还需进一步采用免疫固定电泳检测确认。采用免疫固定电泳检测 BJP,尿液样本以收集 24 h 尿或晨尿为佳,要提高电泳检测的灵敏度可浓缩尿液。但尿液浓缩的方法目前尚有待标准化。本实验采用非浓缩晨尿进行检测,结果表明免疫固定电泳对非浓缩尿也具有有良好的灵敏度和特异性,与 Levinson 和 Keren^[9]的报道一致。

利用非浓缩尿对 BJP 进行免疫固定电泳,可提高 M 蛋白病的临床诊断率。目前,多发性骨髓瘤的发病呈明显上升趋势^[10-12],因此,加强这一领域的研究,将有助于 M 蛋白病的早期发现。

参考文献:

- [1] 张文辉,严建新,陈小东. ELISA 双抗体夹心法检测尿中游离轻链及初步临床应用[J]. 临床检验杂志, 2001, 19(1):37-38.
- [2] 武建国,王毓三. 血清游离轻链测定中应考虑的问题[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(3):165-167.
- [3] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社, 1997.
- [4] Keren DF. Detection and characterization of monoclonal components in serum and urine[J]. Clin Chem, 1998, 44(6 Pt 1):1143-1145.
- [5] 杨忠才,高玉洁,张春明,等. 多发性骨髓瘤血清蛋白电泳与免疫学分型[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2005, 26(7):413-414.
- [6] 刘以淑,肖文义. 12 例多发性骨髓瘤误诊分析[J]. 重庆医学, 2000, 29(2):187-188.
- [7] 杨志钊,杨山虹,郭子文,等. 本周蛋白电泳在 M 蛋白检测中价值的探讨[J]. 中国热带医学, 2006, 6(12):2180-2181.
- [8] Roach BM, Meinke JS, Sridhar N, et al. Multiple narrow bands in urine protein electrophoresis [J]. Clin Chem, 1999, 45(5):716-718.
- [9] Levinson SS, Keren DF. Free light chains of immunoglobulins: clinical laboratory analysis[J]. Clin Chem, 1994, 40(10):1869-1878.
- [10] 严伊文. 180 例多发性骨髓瘤免疫电泳的探讨[J]. 中华血液学杂志, 1996, 17(11):604.
- [11] 陈幸华. 血液肿瘤治疗的现状与前景[J]. 重庆医学, 2003, 32(10):1281-1282.
- [12] 王煜,刘林,张红宾,等. 自体外周血干细胞移植治疗多发性骨髓瘤 8 例疗效观察[J]. 重庆医学, 2009, 38(14):1742-1743.