

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170045

上海地区健康人群血清游离轻链比值参考范围的建立及其对浆细胞肿瘤的诊断价值

陈楠¹, 吴炯¹, 邵文琦¹, 徐雯¹, 刘晓文¹, 吴肇颢², 陈朴¹, 朱建锋¹, 郭玮¹, 潘柏申^{1*}

1. 复旦大学附属中山医院检验科, 上海 200032

2. 复旦大学附属中山医院输血科, 上海 200032

[摘要] **目的:**建立上海地区健康人群血清游离轻链比值(serum free light chain ratio, sFLC-R)参考范围,并探讨 sFLC-R 对浆细胞肿瘤(plasma cell neoplasm, PCN)患者的临床诊断价值。**方法:**纳入 2014 年 12 月至 2015 年 2 月复旦大学附属中山医院健康体检者 65 例为健康组,肾脏病患者 29 例为肾病组,PCN 患者 27 例为 PCN 组。检测研究对象血清 κ 和 λ 游离轻链浓度,计算 sFLC-R。**结果:**健康人群 sFLC-R 取双侧 2.5 和 97.5 百分位点得出参考范围为 0.54~1.15。肾病组患者 κ 和 λ 游离轻链浓度高于健康组($P<0.05$),异常率与 PCN 组差异较小,但 sFLC-R 异常率与 PCN 组差异较大。PCN 组 sFLC-R 主要分布于参考范围外,且以 λ 游离轻链水平增高为主。**结论:**sFLC 反映了浆细胞生成和肾脏排泄的动态过程,其绝对值在浆细胞异常增殖或肾小球滤过率下降时均可升高,但 sFLC-R 仅在免疫球蛋白或轻链限制性表达时出现升高或降低,在肾小球滤过率降低时无变化,可用于 PCN 的早期诊断和鉴别诊断。

[关键词] 血清游离轻链;血清游离轻链比值;浆细胞肿瘤;参考范围

[中图分类号] R 446.1 **[文献标志码]** A

Establishment of medical reference ranges of serum free light chain ratio in Shanghai population and its diagnostic value on PCN

CHEN Nan¹, WU Jiong¹, SHAO Wen-qi¹, XU Wen¹, LIU Xiao-wen¹, WU Bo-ting², CHEN Pu¹, ZHU Jian-feng¹, GUO Wei¹, PAN Bai-shen^{1*}

1. Department of Clinical Laboratory Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

2. Department of Transfusion, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective:** To establish the reference ranges of serum free light chain ratio (sFLC-R) in Shanghai, and to study the preliminary clinical significance of sFLC-R for plasma cell neoplasm(PCN) diagnosis. **Methods:** Sixty-five healthy individuals undergoing ordinary health examinations in Zhongshan Hospital, Fudan University were recruited as the healthy group; 29 patients with kidney disease as the kidney disease group; 27 patients with PCN as the PCN group. All participants enrolled received the serum-free kappa and lambda light chain detection, and sFLC-R was calculated for further analysis. **Results:** The reference range of serum free light chain ratio was 0.54-1.15 (97.5% conference interval). The concentrations of κ and λ FLC in kidney disease group were higher than those in healthy group ($P<0.05$). The abnormalities ratios of sFLC had a slight difference from that of the disease group, but the difference of the sFLC-R abnormalities ratios was quite apparent. The majority sFLC-Rs in PCN group were outside the reference range, especially the increase of λ FLC. **Conclusions:** The concentration of serum-free light chain could reflect the dynamic process of plasma cell production and renal excretion, and sFLC could increase in either plasma cell proliferation or decreased glomerular filtration situations. However, sFLC-R only showed significant changes under the situations in which expressions of either immunoglobulin or light chain were restricted, but remained normal when glomerular filtration decreased. Therefore, the detection of sFLC-R could be a promising tool for early diagnosis and differential diagnosis of plasma cell diseases.

[Key Words] free light chain (FLC); free light chain ratio (FLC-R); plasma cell neoplasm (PCN); reference ranges

[收稿日期] 2017-01-16

[接受日期] 2017-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金(81572064),上海市卫生计生系统重要薄弱学科建设项目(2015ZB0201)。Supported by National Natural Science Foundation of China(81572064) and the Important Weak Subject Construction Project of Health Planning System of Shanghai (2015ZB0201)。

[作者简介] 陈楠,硕士,住院医师。E-mail: chen.nan@zs-hospital.sh.cn

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-64041990-2376, E-mail: pan.baishen@zs-hospital.sh.cn

多项检测指标可用于浆细胞肿瘤(plasma cell neoplasm, PCN)的诊断和鉴别诊断,目前常用的有24 h 尿液免疫固定电泳(immunofixation electrophoresis, IFE)、血清蛋白电泳(serum protein electrophoresis, SPEP)、血清 IFE、血清总轻链测定等^[1-2]。上述检测方法普遍存在稳定性和灵敏度不理想的问题,对于单克隆免疫球蛋白分泌量较少的疾病,如意义未明的单克隆免疫球蛋白血症(monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)及轻链沉积病(light chain deposition disease, LCDD)等检出能力不足,易造成漏诊^[3]。

随着检验技术的不断发展,血清 κ 和 λ 游离轻链(serum free light chain, sFLC)的检测及其比值(sFLC-R)的计算逐渐应用于临床,它具有稳定性好、灵敏度高等优点。自2001年sFLC检测引入临床应用至今^[4],尚未见有关我国健康人群参考范围研究的报道。因此,本研究旨在探讨健康人群sFLC-R的医学参考值范围,并对sFLC-R在PCN中的临床诊断效能进行初步评价。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2014年12月至2015年2月在我院行健康体检者120例,其中男性66例,女性54例。排除标准:40岁以下者;肾功能异常者,估算肾小球滤过率(eGFR) $<100\text{ mL}/(\text{min}\cdot 1.73\text{ m}^2)$;特殊药物应用史者;2周内感染或炎症者。最终纳入健康组65例,其中男性37例,女性28例,中位年龄47岁。

选取2014年12月至2015年2月在本院明确诊断的肾脏病患者29例纳入肾病组,所有患者血清和尿液IFE阴性,且近2周内无感染或炎症。其中慢性肾脏病15例、肾病综合征8例、高血压肾病5例、狼疮性肾病1例;男性17例,女性12例,中位年龄60岁。

选取2014年12月至2015年2月在本院确诊的PCN患者60例,男性34例,女性26例。排除19例合并肾功能不全者,14例经过治疗者。最终纳入PCN组27例,其中男性14例,女性13例,中位年龄58岁。本研究经医院医学伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 样本采集及检测 采集静脉血5 mL,静置凝固后,3 000 r/min,4℃离心10 min分离血清,采用BN-II特定蛋白分析仪(Siemens,德国)检测,检测方法为免疫散射比浊法,检测试剂为游离 κ 链(free light chain κ , κ FLC;批号:473131A, Siemens,德国)、游离 λ 链(free light chain λ , λ FLC;批号:473231A, Siemens,德国)。室内质控品:Siemens N FLC SL2。所有检测操作步骤按照仪器和试剂说明书及科室标准化操作规程进行。

1.3 sFLC-R和异常率计算方法 血清游离轻链 κ 与血清游离轻链 λ 的比值为血清游离轻链比值(sFLC-R),即 $\text{sFLC-R}=\kappa/\lambda$ 。PCN组、健康组和肾病患者血清 κ FLC、 λ FLC、sFLC-R结果分布于本实验参考范围以外的人数与该组总人数的比值为异常率。

1.4 统计学处理 采用SPSS 17.0软件进行数据统计,正态性检验采用单样本K-S检验,如为正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,显著性采用独立样本 t 检验;如为非正态分布检验采用中位数(P_5, P_{95})表示,使用Mann-Whitney U 检验。取双侧第2.5和97.5百分位数值作为参考范围。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 健康组、肾病组和PCN组人群临床资料的比较 各组间年龄、性别差异均无统计学意义(表1)。PCN组与肾病患者血红蛋白和血清钙水平差异无统计学意义,但血清 β_2 微球蛋白、M蛋白浓度、肌酐、骨髓浆细胞比例、骨质破坏(影像学)等在PCN组中明显升高($P<0.05$)。与健康组相比,PCN组患者血红蛋白较低,而血清 β_2 微球蛋白、钙、肌酐、M蛋白浓度、骨髓浆细胞比例、骨质破坏(影像学)均明显升高($P<0.05$)。

2.2 上海地区健康人群血清游离轻链比值参考范围的建立 本研究入组65例 ≥ 40 岁健康体检人群,其中男性37例,女性28例。检测 κ FLC、 λ FLC水平,计算得到sFLC-R水平。 κ FLC和 λ FLC均为非正态分布,sFLC-R为正态分布。sFLC-R取双侧第2.5和97.5百分位数值作为参考范围,本实验室使用免疫散射比浊法建立的sFLC-R参考范围为0.54~1.15(表2)。

表 1 PCN 组、肾病组、健康组人群检测资料分析

指 标	PCN 组 (N = 27)	肾病组 (N = 29)	健康组 (N = 65)	正态性检验 统计量 (K-S 检验 P 值)	方差齐性 检验统计量 (F 值)
年龄 [中位数(P_5 , P_{95})]	58(51-66)	60(47-68)	47(44-52)	0.9	1.879
男性 n (%)	14(45.16)	17(56.67)	37(56.92)		
血红蛋白 $\rho_B/(g \cdot L^{-1})$	112 $\pm$ 28	98.80 $\pm$ 24.20	147.94 $\pm$ 13.52	0.9	0.785
血清 β_2 微球蛋白 $\rho_B/(mg \cdot L^{-1})$ [中位数(P_5 , P_{95})]	3.28(2.17-6.18)	6.16(3.27-15.02)	ND	0.002	0.094
血清钙 $c_B/(mmol \cdot L^{-1})$	2.30 $\pm$ 0.16	2.20 $\pm$ 0.18	ND	0.8	0.222
血清肌酐 $c_B/(mol \cdot L^{-1})$ [中位数(P_5 , P_{95})]	68(57-89)	222(140-598)	68.89 $\pm$ 14.08	0.02	23.029
血清 M 蛋白浓度 $\rho_B/(g \cdot L^{-1})$ [中位数(P_5 , P_{95})]	3.10(0-14.20)	ND	ND		
骨髓浆细胞比例 (%) [中位数(P_5 , P_{95})]	11(5-42.5)	ND	ND		
骨质破坏	20/27	0/32	0/45		
异常率 (%) *					
κ FLC	74	83			
λ FLC	56	86			
sFLC-R	74	0			

* 异常率的计算以本研究建立的参考范围为标准;ND 表示未检查

表 2 正常人 sFLC 及其比值的参考范围

指 标	血清浓度 $\rho_B/(mg \cdot L^{-1})$	参考范围 $\rho_B/(mg \cdot L^{-1})$
κ FLC [中位数(P_5 , P_{95})]	13.80(12.20-16.30)	9.60-23.20
λ FLC [中位数(P_5 , P_{95})]	17.60(15.20-22.50)	11.60-37.50
sFLC-R	0.79 $\pm$ 0.16	0.54-1.15

2.3 血清游离轻链比值参考范围的临床效能评价 以PCN 组为阳性,肾病组和健康组为阴性,sFLC-R 为 0.54~1.15,计算出本实验 sFLC-R 参考范围筛查 PCN 的敏感性为 66.67%、特异性 91.49%、阳性预测值为 69.23%、阴性预测值为 90.53%。本实验建立的 sFLC-R 参考范围特异性及阴性预测值较好。

以本研究建立的 κ FLC、 λ FLC 和 sFLC-R 参考范围,在 PCN 组与肾病组中 κ FLC 异常率分别为 74%和 83%; λ FLC 的异常率分别为 56%和 86%;sFLC-R 的异常率在 PCN 组为 74%,在肾病组则未见。

患者 κ FLC 和 λ FLC 浓度采用 10 为底的对数值作 Y、X 轴绘制散点图,同样对 sFLC-R 参考范围 0.54~1.15 取对数值作参考区间曲线(图 1)。健康组 65 例,绝大部分分布于参考区间范围内。肾病组中,全部患者(29/29) κ FLC 和 λ FLC 浓度均高于健康组,但比值均在参考范围内。PCN 组患者中大部分(18/27)分布于图中参考区间范围以外,且以 λ FLC 型为主。

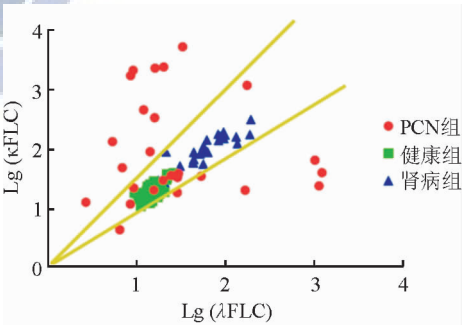


图 1 PCN 组、肾病组和健康组 κ FLC 和 λ FLC 水平分布

3 讨论

PCN 是浆细胞克隆增殖,导致血清或尿液中免疫球蛋白、轻链或重链增多并在组织中沉积引起相应器官功能异常的一组疾病。PCN 临床表现多样,且起病隐匿,对早期诊断带来了巨大挑战,而早期诊断率的低下往往导致 PCN 患者错失了最佳治疗时机。美国 Mayo 诊所的研究数据显示 MGUS 患者在随访过程中每年大约有 1%~2%转化为多发性骨髓瘤,且 10 年、20 年、25 年的累计转化率分别为 17%、34%和 39%^[5],而多发性骨髓瘤是除非霍

奇金淋巴瘤外,第二位最常见的血液系统疾病,至今仍难以治愈^[6-8]。因此 PCN 的早期有效筛查是重要的临床治疗策略,在目前老龄化的背景下显得尤为重要。

常见的单克隆免疫球蛋白的筛查方法有 24 h 尿液 IFE、SPEP、血清 IFE、血清总轻链的测定等。SPEP 和 IFE 联合应用曾被认为是 PCN 筛查的金标准。但有学者提出这两种方法的检测下限分别为 500~2 000 mg/L 和 150~500 mg/L^[9],作为 PCN 筛查金标准不够理想。如免疫球蛋白分泌较少的寡分泌型 PCN,未达到 SPEP 和 IFE 的检测下限,易造成漏诊。有研究者^[10]建立量化 SPEP 组分判断标准,试图提高准确性和灵敏度,但目前 M 蛋白定量方法仍未成熟,主观因素影响较大。24 h 尿 IFE 检测除受到肾阈值和功能影响外,还需收集 24 h 尿液,对患者要求较高且造成不便。而国内报道的血清总轻链检测敏感性较差,临床应用受限^[11]。因此,亟需更加敏感、特异,且便捷的方法用于 PCN 的早期筛查和诊断。

sFLC 检测是 PCN 检测方法中的一个重要进展^[12],PCN 与其他血液系统恶性肿瘤因限制性产生特定类型的单克隆 κ FLC 或 λ FLC,而抑制另一种游离轻链,使得 sFLC-R 极性增大或减小。2001 年 sFLC 检测运用于 PCN 的筛查,sFLC 检测下限小于 1 mg/L^[9],该方法具有方便、灵敏度高、定量检测等优点。2012 年,Larsen 等^[13]对 586 例冒烟型骨髓瘤(smoldering multiple myeloma, SMM)患者的研究中发现,sFLC-R ≥ 100 的 SMM 患者中有 79%的患者在 2 年内进展为多发性骨髓瘤或轻链淀粉样变。2014 年,国际骨髓瘤工作组(International Myeloma Working Group, IMWG)指南建议将 sFLC(sFLC ≥ 100)检测作为诊断和筛查多发性骨髓瘤的指标之一^[1]。2016 年,NCCN 多发性骨髓瘤诊断指南中新增异常血清游离轻链比值(sFLC-R ≥ 100 或 ≤ 0.01)作为一项活动性骨髓瘤的诊断标准^[1]。此外,对浆细胞比例未达标准的患者,如有上述血清游离轻链异常即可考虑开始治疗。因此 sFLC-R 对于 PCN 的诊断和筛查亦或是治疗方面均具有重要意义,建立健康人群 sFLC 浓度与比值的参考范围对疾病的筛查和诊断迫在眉睫。

本研究选取 65 名 40 岁及以上的健康人群进行 sFLC 检测和分析,发现 κ FLC 和 λ FLC 水平为非正态分布,sFLC-R 为正态分布,取双侧 2.5 和 97.5

百分位点建立参考范围,即 0.54~1.15。Katzmann 等^[14]对 282 名 21~90 岁的健康人群血清进行分析后,确定了 κ FLC、 λ FLC 及比值的参考范围,并计算 sFLC-R 参考范围为 0.26~1.65。本研究与 Katzmann 等的结果存在一定偏倚。分析原因:(1)可能与种族有关,Katzmann 等选取白种人为研究对象,而本研究人群为亚裔黄种人;(2)本实验人群例数较少,为 65 人。此外人群年龄、性别分布亦不相同。尽管本实验得出的参考范围较窄,但具有更好的特异性和阴性预测值,仍需加大样本数来进一步研究,获得我国健康人群的参考范围。

本研究中肾病组患者 sFLC 均高于健康组,且 sFLC 异常率与 PCN 组较接近,sFLC-R 与 PCN 组差异较大,但均分布于参考范围内。sFLC 浓度反映浆细胞产生轻链和肾脏排泄轻链的动态过程。肾小球滤过率降低时,sFLC 排出减少, κ FLC 和 λ FLC 均升高,但 sFLC-R 仍在正常范围内。PCN 时产生限制性免疫球蛋白或轻链,随之单克隆 sFLC 增加,sFLC-R 异常。Mead 等^[15]对 493 例 MM 患者血清检测结果回顾分析,同样发现 96%患者存在 sFLC 升高或比值异常。本研究 PCN 组中多数患者 sFLC、sFLC-R 异常,且 sFLC-R 普遍分布于参考范围外,与 Mead 等的研究结果相符。本自建参考范围阴性预测值和特异性均较高,有助于 PCN 辅助诊断和鉴别诊断,尤其是排除性诊断。

综上所述,本研究初步建立了上海地区人群的 sFLC-R 医学参考值范围,发现其对于 PCN 具有良好的临床诊断效能,尤其在区分 PCN 与肾脏病患者方面体现出较大优势,有助于 PCN 早期筛查和诊断水平的提高。

参考文献

- [1] RAJKUMAR S V, DIMOPOULOS M A, PALUMBO A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma[J]. *Lancet Oncol*, 2014,15(12):e538-e548.
- [2] DUPUIS M M, TUCHMAN S A. Non-secretory multiple myeloma: from biology to clinical management[J]. *Onco Targets Ther*, 2016,9:7583-7590.
- [3] KYLE R A, GERTZ M A. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases[J]. *Semin Hematol*, 1995,32(1):45-59.
- [4] DEJOIE T, CORRE J, CAILLON H, et al. Serum free light chains, not urine specimens, should be used to evaluate response in light-chain multiple myeloma[J]. *Blood*, 2016,

- 128(25):2941-2948.
- [5] BLADÉ J. Clinical practice. Monoclonal gammopathy of undetermined significance[J]. N Engl J Med, 2006,355(26): 2765-2770.
- [6] CAERS J, WITHOFS N, HILLENGASS J, et al. The role of positron emission tomography-computed tomography and magnetic resonance imaging in diagnosis and follow up of multiple myeloma[J]. Haematologica, 2014,99(4):629-637.
- [7] 季丽莉, 陈晨, 张雪皎, 等. 多发性骨髓瘤患者血清 IL-6、CRP 的临床意义[J]. 中国临床医学, 2016,23(3):337-340.
- [8] KARP LEAF R, CHO H J, AVIGAN D. Immunotherapy for multiple myeloma, past, present, and future: monoclonal antibodies, vaccines, and cellular therapies [J]. Curr Hematol Malig Rep, 2015,10(4):395-404.
- [9] BRADWELL A R, CARR-SMITH H D, MEAD G P, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine[J]. Clin Chem, 2001,47(4):673-680.
- [10] 邵文琦, 汪洋, 吴炯, 等. 毛细管电泳对单克隆球蛋白血症的筛选及分析[J]. 中华检验医学杂志, 2013,36(12): 1150-1153.
- [11] 李华, 翟铤. 血清 κ/λ 轻链比值测定对多发性骨髓瘤的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2006,27(2):100-101.
- [12] BROLE M V, SADLER R, RAMASAMY K. Serum-free light-chain assay: clinical utility and limitations[J]. Ann Clin Biochem, 2014,51(Pt 5):528-542.
- [13] LARSEN J T, KUMAR S K, DISPENZIERI A, et al. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma[J]. Leukemia, 2013,27(4): 941-946.
- [14] KATZMANN J A, CLARK R J, ABRAHAM R S, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains[J]. Clin Chem, 2002,48(9):1437-1444.
- [15] MEAD G P, CARR-SMITH H D, DRAYSON M T, et al. Serum free light chains for monitoring multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2004,126(3):348-354.
- [本文编辑] 廖晓瑜, 贾泽军

