

血清游离轻链检测在原发性轻链型淀粉样变中的诊断及预后价值

张聪丽 冯俊 沈恺妮 苏薇 张春兰 黄栩蒂 曹欣欣 张路 周道斌 李剑

【摘要】 目的 研究血清游离轻链(sFLC)检测在原发性轻链型淀粉样变(pAL)中的诊断和预后价值。方法 回顾性分析2009年1月至2015年6月确诊且有完整sFLC数据的126例pAL患者的临床资料,探讨sFLC的诊断价值,并采用Cox回归法分析sFLC差值(dFLC)的预后价值。结果 126例患者中男女比例为1.57:1,中位年龄为57(37~81)岁, λ 轻链型者80例(63.5%),肾脏受累者87例(69.0%),心脏受累者79例(62.7%)。126例患者的中位dFLC为99(1~4 263)mg/L。血清蛋白电泳、血清免疫固定电泳、尿免疫固定电泳和sFLC比值异常法检测单克隆免疫球蛋白(M蛋白)的阳性检出率分别为34.9%(44/126)、63.5%(80/126)、77.0%(97/126)和81.0%(102/126)。联合上述四种方法可将M蛋白的检出率提高至98.4%(124/126)。中位随访16个月后,37例患者死亡,所有患者的中位生存时间尚未达到。多因素分析发现dFLC \geq 130 mg/L是影响pAL患者预后的独立危险因素($HR=3.272$, 95% CI 1.384~7.739, $P=0.007$)。结论 sFLC检测可显著提高pAL患者M蛋白的检出率;高水平dFLC是影响患者预后的独立危险因素。

【关键词】 免疫球蛋白轻链; 淀粉样变性; 诊断; 预后

基金项目:首都临床特色应用研究(Z131107002213050)

The diagnostic and prognostic values of serum free light chain in patients with primary light chain amyloidosis Zhang Congli, Feng Jun, Shen Kaini, Su Wei, Zhang Chunlan, Huang Xufei, Cao Xinxin, Zhang Lu, Zhou Daobin, Li Jian. Department of Hematology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China
Corresponding author: Li Jian, Email: lijian@pumch.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the diagnostic and prognostic values of serum free light chain (sFLC) in patients with primary light chain amyloidosis (pAL). **Methods** Patients diagnosed with pAL between January 2009 and June 2015 at Peking Union Medical College Hospital were included in this study to retrospectively evaluate the clinical data, sFLC, treatment and survival. **Results** In total, 126 newly diagnosed pAL patients with complete sFLC data were included in this study. The median age was 57 years old (range, 37–81 years) and male to female ratio was 1.57. Eighty patients (63.5%) had lambda type light chain. Renal and cardiac involvements occurred in 87 cases (69%) and 79 cases (62.7%), respectively. The median value of difference between involved and uninvolved serum immunoglobulin free light chain levels (dFLC) was 99 mg/L (range, 1–4 263 mg/L). The positive rate of serum protein electrophoresis, serum immune fixation electrophoresis, urine immunofixation electrophoresis and abnormal sFLC ratio to detect monoclonal immunoglobulin were 34.9% (44 cases), 63.5% (80 cases), 77.0% (97 cases) and 81.0% (102 cases), respectively. The sensitivity for identifying monoclonal immunoglobulin could be increased to 98.4% (124 cases) by using the above-mentioned four methods. The median follow-up was 16 months, 37 patients were dead at the last follow-up. The median overall survival of all patients were not reached. Multivariate analysis showed that dFLC \geq 130 mg/L was independently associated with inferior survival ($HR=3.272$, 95% CI 1.384–7.739, $P=0.007$). **Conclusions** Serum FLC measurement combined with other methods could improve the sensitivity of detection of monoclonal immunoglobulin in patients with pAL. The high level of dFLC was an independent prognostic factor for survival.

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.11.003

作者单位: 100730 中国医学科学院、北京协和医学院北京协和医院血液内科(张聪丽、冯俊、沈恺妮、张春兰、黄栩蒂、曹欣欣、张路、周道斌、李剑), 检验科(苏薇)

通信作者: 李剑, Email: lijian@pumch.cn

【Key words】 Immunoglobulin light chains; Amyloidosis; Diagnostic; Prognostic

Fund program: Beijing Municipal Science & Technology Commission (Z131107002213050)

原发性轻链型淀粉样变(primary light chain amyloidosis, pAL)是一种以单克隆浆细胞产生的异常折叠的免疫球蛋白轻链沉积在细胞外组织并导致脏器功能不全为特点的单克隆浆细胞病。因此,血/尿单克隆免疫球蛋白(M蛋白)的存在是pAL患者发病和诊断的必要条件。目前临床常用的M蛋白检测方法包括血清蛋白电泳、血/尿免疫固定电泳和血清游离轻链(serum free light chain, sFLC)检测。在国外,sFLC检测已经被广泛应用于pAL的诊断、疗效判断和预后^[1-2]。但是,国内的相关数据还很少。因此,我们对我院126例有完整sFLC数据的pAL患者的临床资料进行回顾性分析,现将结果报告如下。

病例与方法

1. 病例:以2009年1月至2015年6月在我院确诊的具有完整基线sFLC数据的126例pAL患者为研究对象。所有患者均符合以下诊断标准:①活检组织经刚果红染色后在光镜下可见均质粉染无定型物质,且偏振光显微镜下呈苹果绿荧光双折射;②病变组织经免疫组化法、免疫荧光法或激光显微切割联合质谱蛋白质学方法鉴定为轻链沉积^[3];③除外多发性骨髓瘤、华氏巨球蛋白血症或其他B细胞淋巴瘤。收集患者的人口学、基础疾病、器官受累、血清蛋白电泳、血清免疫固定电泳、尿免疫固定电泳、sFLC、治疗方案和生存等资料。

2. 器官受累的判定标准:参照文献[4]标准。肾脏:24 h尿总蛋白>0.5 g;肝脏:除外心衰导致的肝淤血,且肝脏长径>15 cm或碱性磷酸酶(ALP)升高>1.5倍正常值上限;心脏:超声心动图提示左室壁厚度>12 mm,无肾衰或房颤情况下N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)>332 ng/L;胃肠道:腹泻或吸收不良,且通过消化道活检证实;肺:影像学提示肺间质浸润,且通过肺活检证实;神经系统:周围神经受累多表现为对称性下肢感觉运动障碍,自主神经病变可有胃排空障碍、假性梗阻、直立性低血压、排尿障碍等表现,男性可出现勃起功能障碍。

3. 梅奥临床分期:梅奥2004分期定义为^[5]:1期为心肌肌钙蛋白I(cTnI)<0.1 μg/L和NT-proBNP<332 ng/L;2期为cTnI≥0.1 μg/L或NT-proBNP≥332

ng/L;3期为cTnI≥0.1 μg/L和NT-proBNP≥332 ng/L。梅奥2012分期按照患者具有以下危险因素个数(0~3个)分为1~4期^[6]:NT-proBNP≥1 800 ng/L、cTnI≥0.08 μg/L和sFLC差值(dFLC)≥180 mg/L。

4. FLC检测方法:利用sFLC试剂盒(英国Binding Site公司产品),通过散射免疫比浊法测定患者首次就诊时或治疗前的sFLC水平,正常值范围为κ 3.3~19.4 mg/L和λ 5.7~26.3 mg/L,sFLC比值的正常范围为0.26~1.65^[7]。dFLC定义为受累轻链水平与未受累轻链水平的差值。

5. 随访:通过电话及门诊系统进行随访,末次随访时间为2015年5月31日。

6. 统计学处理:采用SPSS软件进行统计学分析。采用Cox回归比例风险模型针对总生存时间进行单因素回归分析,并将P<0.10的变量纳入多因素Cox回归,寻找预测患者全因死亡的危险因素。P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般资料:126例患者中,男77例,女49例,男女比例为1.57:1。中位年龄57(37~81)岁。以轻链型多见,占63.5%(80/126)。受累器官依次为:肾脏87例(69.0%)、心脏79例(62.7%)、肝脏31例(24.6%)、神经系统23例(18.3%)、胃肠道16例(12.7%)、肺脏8例(6.3%)。1个器官受累者37例(29.4%),2个器官受累者44例(34.9%),3个器官受累者28例(22.2%),>3个器官受累者17例(13.5%)。中位肾小球滤过率估测值(eGFR,CKD-EPI法计算)为84.85(6.0~177.0)ml/min,其中eGFR<60 ml/min者29例(23%)。

利用受试者工作特征曲线(ROC曲线)寻找预测死亡最佳界值为dFLC≥130 mg/L,敏感度为77.8%,特异度为77.1%,此时约登指数最大(图1)。中位dFLC为99(1~4 263)mg/L,其中dFLC≥130 mg/L者72例(57.1%)。中位FLC-κ为20.15(0~2 342)mg/L,中位FLC-λ为71.05(5~4 280)mg/L。

梅奥2004分期中1、2、3期患者分别为41例(32.5%)、52例(41.3%)、31例(24.6%)。梅奥2012分期中1、2、3、4期患者分别为45例(35.7%)、32例(25.4%)、31例(24.6%)和16例(12.7%)。

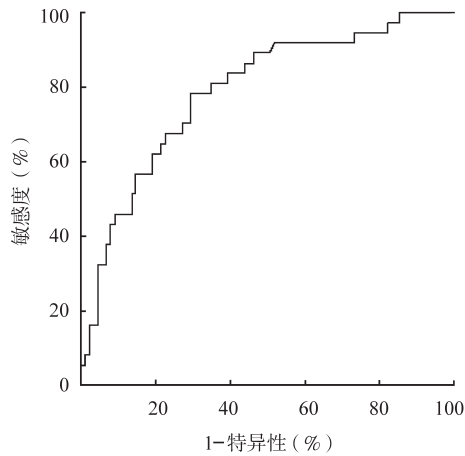


图1 血清游离轻链差值预测死亡的受试者工作特征曲线(ROC曲线)

2. M蛋白检测的阳性检出率:所有患者均进行了血清蛋白电泳、血清免疫固定电泳和尿免疫固定电泳的检测,其阳性检出率分别为34.9%(44/126)、63.5%(80/126)和77.0%(97/126)。上述3种方法联合可将M蛋白阳性检出率提高至89.7%(113/126)。通过sFLC检测发现存在sFLC比值异常者102例(81.0%)。进一步联合上述4种方法,则可将M蛋白阳性检出率提高至98.4%(124/126)。剩余2例M蛋白阴性患者最终通过激光显微切割联合质谱蛋白质学方法确诊为pAL。

3. 治疗和生存:126患者中28例首选自体造血干细胞移植,35例首选硼替佐米为基础的化疗方案,26例首选马法兰为基础的化疗方案,9例首选沙利度胺为基础的化疗方案,11例首选来那度胺为基础的化疗方案,剩余17例患者则仅接受姑息支持治疗。中位随访16(0~78)个月后,37例(29.4%)患者死亡。所有患者的中位总生存时间尚未达到。

4. 预后因素分析:将性别、年龄、轻链类型、eGFR、脏器受累情况、梅奥2004分期、dFLC和sFLC比值异常与否等因素纳入Cox回归模型,分析对患者总生存的影响。多因素Cox回归分析发现:dFLC≥130 mg/L($P=0.007$)、梅奥2004分期2~3期($P=0.001$)、肝脏受累($P=0.017$)和eGFR<60 ml/min($P=0.034$)是影响pAL患者总生存的独立预后不良因素(表1)。

讨 论

与血清蛋白电泳和(或)免疫固定电泳相比较,sFLC检测不仅能够用于判断免疫球蛋白的克隆性,

还使得对微量M蛋白的定量检测成为可能。目前sFLC已经被广泛地应用于多种浆细胞病(如意义未明的单克隆免疫球蛋白血症、多发性骨髓瘤、华氏巨球蛋白血症、AL和POEMS综合征等)的诊断、疗效评价、微小残留病变检测和预后分层^[8-10]。

表1 影响原发性轻链型淀粉样变患者预后的单因素和多因素分析

影响因素	HR(95%CI)	P值
单因素分析		
男性	1.320(0.659~2.641)	0.433
年龄≥60岁	1.083(0.563~2.083)	0.812
轻链κ型	1.502(0.533~2.078)	0.883
肝脏受累	1.816(0.919~3.589)	0.086
神经系统受累	2.997(1.530~5.872)	0.001
胃肠道受累	1.803(0.821~3.963)	0.142
肺受累	1.241(0.298~5.174)	0.767
eGFR<60 ml/min	1.847(0.922~3.697)	0.083
梅奥2004分期2~3期	4.843(1.712~13.905)	0.003
dFLC≥130 mg/L	4.836(2.269~10.307)	<0.001
sFLC比值异常	4.551(1.092~18.967)	0.037
多因素分析		
肝脏受累	2.358(1.167~4.743)	0.017
神经系统受累	1.842(0.904~3.753)	0.081
eGFR<60 ml/min	2.253(1.065~4.765)	0.034
梅奥2004分期2~3期	4.204(1.440~12.277)	0.001
dFLC≥130 mg/L	3.272(1.384~7.739)	0.007
sFLC比值异常	2.052(0.414~10.172)	0.379

注:eGFR:肾小球滤过率估测值;dFLC:血清游离轻链差值;sFLC:血清游离轻链

M蛋白轻链是AL变的发病基础,M蛋白检出是诊断AL的基本条件。有数据显示,sFLC联合传统的血清蛋白电泳、血/尿免疫固定电泳有助于发现更高比例的M蛋白。例如,美国梅奥诊所一项纳入121例AL患者的研究结果显示:血免疫固定电泳、尿免疫固定电泳和FLC比值异常的M蛋白阳性检出率分别为69%、83%和91%^[11]。另一项115例AL患者的研究结果显示:血免疫固定电泳、尿免疫固定电泳与FLC比值异常的M蛋白阳性检出率分别为80%、67%和76%,上述3种方法联合检测,M蛋白的阳性检出率可高达100%^[12]。我们的研究结果显示,血清蛋白电泳M蛋白的阳性检出率最低仅为34.9%,而血免疫固定电泳、尿免疫固定电泳和sFLC比值异常法检测M蛋白的阳性检出率分别为63.5%、77%和81%,联合上述4种方法则可在绝大

多数(98.4%)pAL患者中检出M蛋白。

由于sFLC水平是pAL患者体内肿瘤负荷的指示物,因此sFLC水平是pAL患者的重要预后指标。在一项来自美国梅奥诊所730例pAL患者的回顾性分析中,以中位dFLC值为界(κ 链为294 mg/L, λ 链为182 mg/L)将患者分为高水平和低水平dFLC两组,发现前者的心脏受累更重,且多伴有严重的消化道和肾脏受累;同时,前者的总生存时间明显短于后者(10.9对37.1个月)^[2]。同样,dFLC \geq 180 mg/L、cTnI \geq 0.025 μ g/L和NT-proBNP \geq 1 800 ng/L三个独立危险因素被纳入梅奥2012分期系统^[6]。我们的数据分析结果也同样显示高水平基线dFLC(\geq 130 mg/L)为影响pAL患者预后的独立危险因素,高水平dFLC者的死亡风险是低水平者的4倍。另外,我们的研究结果也显示肝脏受累是影响pAL患者预后的独立危险因素。Park等^[13]对85例肝脏受累的pAL患者进行研究,结果显示肝脏受累患者中位生存时间仅为8.5个月,5年存活率为16.9%。而黄湘华等^[14]在一项纳入245例pAL患者的回顾性研究中,也同样发现肝脏受累为影响患者预后的独立危险因素。

综上,sFLC检测对于pAL患者的诊断和预后分层有着重要的意义。sFLC检测联合血清蛋白电泳、血/尿免疫固定电泳可显著提高M蛋白的阳性检出率。同样,高水平dFLC(\geq 130 mg/L)、梅奥2004分期2~3期、eGFR $<$ 60 ml/min和肝脏受累都是影响pAL患者预后的独立危险因素。因此,在临床实践中,对于pAL患者应常规检测sFLC。

参考文献

- [1] Abraham RS, Katzmman JA, Clark RJ, et al. Quantitative analysis of serum free light chains. A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis [J]. *Am J Clin Pathol*, 2003, 119 (2): 274-278. doi: 10.1309/LYWM-47K2-L8XY-FFB3.
- [2] Kumar S, Dispenzieri A, Katzmman JA, et al. Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features [J]. *Blood*, 2010, 116(24): 5126-5129. doi: 10.1182/blood-2010-06-290668.
- [3] 沈恺妮, 孙维绎, 孙健, 等. 利用激光显微切割联合质谱蛋白质组学方法进行系统性淀粉样变性分型[J]. *中华血液学杂志*, 2015, 36(2): 99-102. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.02.003.
- [4] Gillmore JD, Wechalekar A, Bird J, et al. Guidelines on the diagnosis and investigation of AL amyloidosis [J]. *Br J Haematol*, 2015, 168(2): 207-218. doi: 10.1111/bjh.13156.
- [5] Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, et al. Serum cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22 (18): 3751-3757. doi: 10.1200/JCO.2004.03.029.
- [6] Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(9): 989-995. doi: 10.1200/JCO.2011.38.5724.
- [7] Katzmman JA, Clark RJ, Abraham RS, 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.
- [8] Bhole MV, Sadler R, Ramasamy K. Serum-free light-chain assay: clinical utility and limitations [J]. *Ann Clin Biochem*, 2014, 51(Pt 5): 528-542. doi: 10.1177/0004563213518758.
- [9] Leleu X, Xie W, Bagshaw M, et al. The role of serum immunoglobulin free light chain in response and progression in waldenstrom macroglobulinemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17 (9): 3013-3018. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2954.
- [10] Wang C, Su W, Zhang W, et al. Serum immunoglobulin free light chain and heavy/light chain measurements in POEMS syndrome [J]. *Ann Hematol*, 2014, 93 (7):1201-1206. doi: 10.1007/s00277-014-2019-y.
- [11] Akar H, Seldin DC, Magnani B, et al. Quantitative serum free light chain assay in the diagnostic evaluation of AL amyloidosis [J]. *Amyloid*, 2005, 12 (4): 210-215. doi: 10.1080/13506120500352339.
- [12] Katzmman JA, Abraham RS, Dispenzieri A, et al. Diagnostic performance of quantitative kappa and lambda free light chain assays in clinical practice [J]. *Clin Chem*, 2005, 51(5): 878-881. doi: 10.1373/clinchem.2004.046870.
- [13] Park MA, Mueller PS, Kyle RA, et al. Primary (AL) hepatic amyloidosis: clinical features and natural history in 98 patients [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2003, 82(5): 291-298. doi: 10.1097/01.md.0000091183.93122.c7.
- [14] 黄湘华, 蒋松, 史明君, 等. 原发性系统性淀粉样变性的预后及危险因素分析 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2012, 21 (4): 304-310. doi: 10.3969/j.issn.1006-298X.2012.04.002.

(收稿日期:2016-04-01)

(本文编辑:刘志红)