

出國報告（出國類別：訓練）

MASS-FIX:利用質譜儀更精確偵測 M  
protein 以作為預測多發性骨髓瘤治療  
及預後之指標

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名職稱：莊名凱

派赴國家：美國

出國期間：113 年 03 月 11 日至 113 年 03 月 29 日

報告日期：113 年 05 月 29 日

摘要：

M protein 為診斷及追蹤多發性骨髓瘤(Multiple myeloma)重要的指標，美國梅約醫學中心(Mayo Clinic)已使用質譜儀檢驗方法(MASS-FIX)全面取代傳統的血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析(Immunofixation electrophoresis, IFE)。此次前往美國梅約醫學中心學習 MASS-FIX 及該院臨床使用的經驗，了解其檢驗原理、過程、判讀。MASS-FIX 相對於傳統檢驗方法具有多項優點，包括減少檢驗人力、增加檢驗敏感度、能區分治療性單株抗體藥物的干擾及真正的病理性 M protein、和鑑別在免疫球蛋白輕鏈上具異常醣化(glycosylation)的 M protein 的存在，該檢驗作為追蹤微量殘餘疾病(minimal residual disease)相對於其他傳統檢驗也具有優勢。建議可考慮引進本院，以造福臨床病人。

目次：

壹、目的 .....	1
貳、過程 .....	1
一、進修機構介紹、環境設置.....	1
二、過程及見聞.....	2
參、心得 .....	8
肆、建議事項 .....	9
伍、參考文獻.....	10

## 壹、目的：

M protein 為診斷及追蹤多發性骨髓瘤(Multiple myeloma)重要的指標，目前本院主要使用血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析(Immunofixation electrophoresis, IFE)等方法檢驗；但隨著多發性骨髓瘤治療與預後研究的進步，臨床上需要能偵測到極微量 M protein 的存在以評估病人的預後，另外因為治療多發性骨髓瘤的抗體藥物的出現(如 Daratumumab)，也使得使用傳統方法在某些病人追蹤 M protein 時產生干擾。隨著質譜儀的進步，近年也開始應用於 M protein 的檢驗，在 Mayo Clinic 已全面取代 SPEP 及 IFE。目前運用質譜儀分析 M protein，除了已進入應用階段之 MASS-FIX 外，其他比較重要的分析方法，如 miRAMM，亦是由 Mayo clinic 實驗室所發展，該實驗室可說是該領域之領導者，當然是最適合前往學習之單位。Mayo Clinic 有制度化之 Visiting Laboratory Professional Program(VLPP)，提供完整之訓練課程，接受相關專業之醫療人員前往學習。使用更精密的方法檢驗 M protein 已是未來趨勢，我們勢必需要跟上科技的進步，引入新的檢驗以造福病人。

## 貳、過程

### 一、進修機構介紹、環境設置

Mayo Clinic 於 1864 年在明尼蘇達州羅徹斯特建立，距今已超過 160 年，並從一個小診所發展成為組織龐大的醫學中心，除了明尼蘇達州羅徹斯特地區外，在亞歷桑那州鳳凰城及佛羅里達州傑克遜維爾亦有二個較大的院區。此次進修學習院區便是位於明尼蘇達州羅徹斯特，Mayo clinic 在羅徹斯特也擁有許多不同院區及建築，檢驗部門並非位於服務病人、且位於市中心的主要院區，而是位於市郊的 Superior Drive Support Center。病人的檢體會經由貨車運送至 Superior Drive Support Center 進行檢驗。實驗室不只收檢來自羅徹斯特院區的檢體，也接收來自亞歷桑那州院區、佛羅里達州院區、全美各地、甚至是全世界的檢體。以這次主要學習的 M protein 相關檢驗的檢體，平均一天可達 750~800 件，而本院檢驗醫學部一天類似項目的檢體大約是 40~60 件左右，他們的檢體量是我們的十倍以上。這也是該院希望發展利用質譜儀檢測 M protein 的原因之一：傳統的血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析非常耗費人力，在這麼大的檢驗量之下，需要龐大的檢驗人

力。

## 二、過程及見聞

Mayo Clinic 對於國外短期訓練者的接待非常的制度化，開始訓練的第一天上午先至市中心的主要院區報到及完成類似本院職前訓練的一系列線上課程後，第一天下午便回主要的訓練地點 Superior Drive Support Center 作環境介紹。他們有類似本院 TMS 但更為強大的線上學習系統 Brightspace，會給個別短期訓練者帳號登入，並有客製化的內容。除了線上學習之外，也安排了實體的演講和見習課程，我的三週簡單課程如下表。

Week 1: Mar 11- 15			
Monday	Obtain ID Badges and Log-in	Meet at 9am in Gonda Building, break at 11am for lunch and transport out to SDSC	Melissa
	SDSC Orientation	Meet in SDSC Front Lobby at 12:35/12:40	Melissa
	Brightspace Introduction	2:30-3pm	Dan + Jamie
Tuesday	MRD Lecture	10am-11am	Mindy
Wednesday	MALDI-TOF Lecture	10-11am	Dr. Murray
Thursday	Independent Study		
Friday	Shadow BNII and Optilite Bench	9am-11am	Technologists
	Immunology Methodologies	11am-12pm	Dr. Willrich
	PIL Consultant Sign-outs	2-4pm	Dr. Murray

Week 2: Mar 18-22			
Monday	PIL Consultant Sign-outs	11am-12pm	Dr. Willrich
	Monoclonal Gammopathies Lecture	2-3pm	Dr. Willrich
Tuesday	Shadow MALDI Bench	9am-11am	Technologists
Wednesday	Mass Spec Basics Lecture	10-11am	Tony Maus
Thursday	Independent Study		
Friday	Independent Study		

Week 3: Mar 25-29			
Monday	Mass Spec Assays for Tmabs	10-11am	Paula Ladwig
Tuesday	Independent Study		
Wednesday	Mass Spec Basics Lecture	10-11am	Tony Maus
Thursday	Independent Study		
Friday	Independent Study		

Brightspace 線上學習系統內容非常豐富，這三週花了很多時間把這些線上課程完成，若對線上課程有問題，也能在實體課程請教老師、專家，甚至能直接用 Mayo clinic 院內 message 系統或 email 請教課程提供者。我在該院訓練的期間，也有來自比利時、西班牙、印度等不同國家的短期訓練者，訓練時程不一，可能是 3 週到 12 週，對於較長時程的訓練者，會要求要在這段期間作一個小的研究主題，並於期末離開前作口頭報告。課程安排也很有彈性，由於我希望能熟悉 MASS-FIX 的判讀，提出要求後，負責課程安排的教學專員便幫我在第二週及第三週多安排了六、七次見習(shadow)的機會(額外的安排沒有在上面原始課表中)，感覺他們非常重視訓練者的需求，而三週期間，接觸到的醫師、醫檢師也都非常友善，樂於

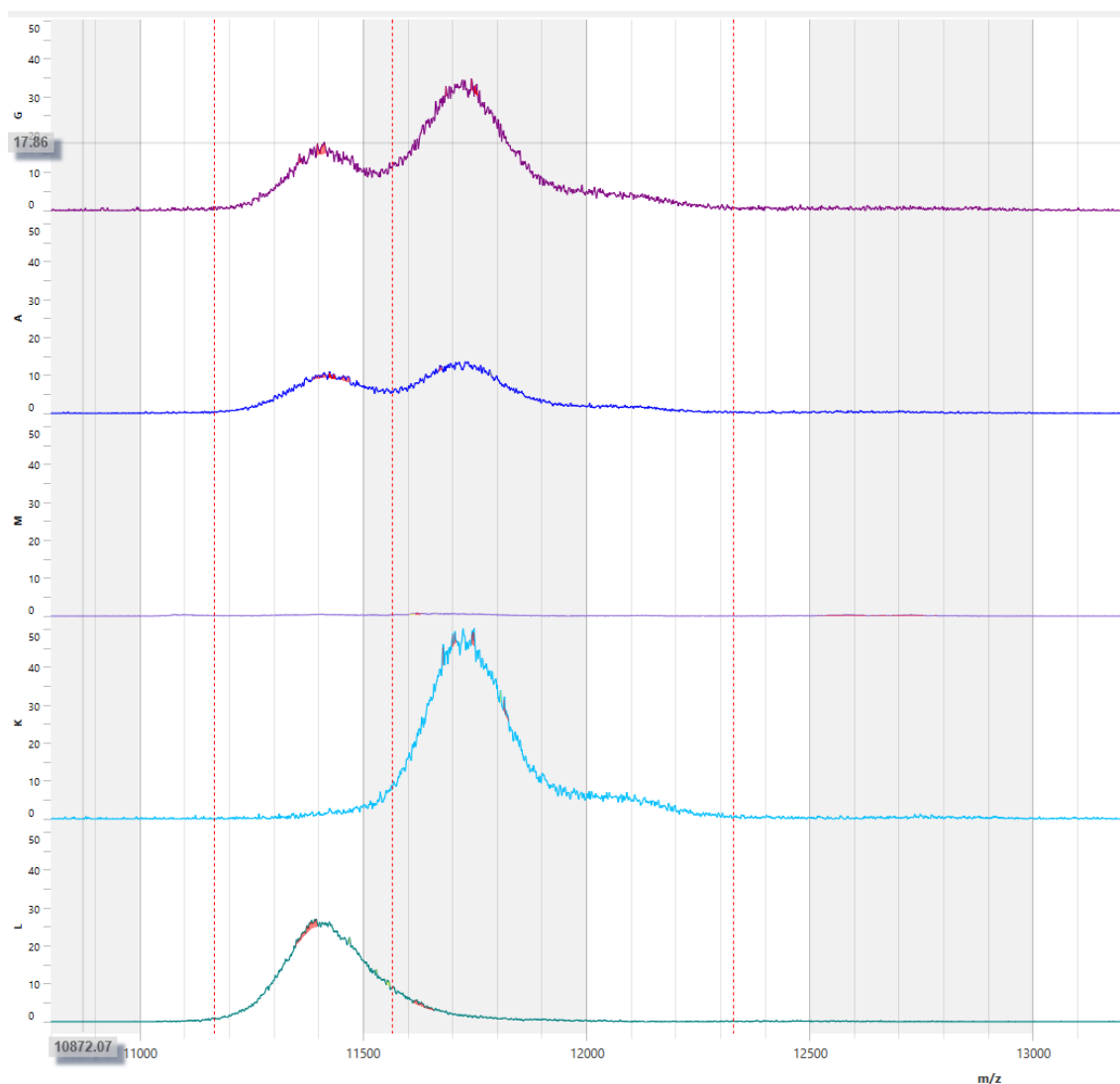
回答任何問題。

我此行主要要學習的檢驗方法 MASS-FIX，是利用質譜儀檢驗血中之 M protein。但並非直接把血漿去作質譜儀分析而已。由於血漿中物質組成極為複雜，直接分析會有太多干擾，因此需先將血漿中的免疫球蛋白純化，再去作質譜儀分析，他們使用 Thermo Fisher 的 IgG、IgA、IgM、kappa chain 及 lambda chain 的純化樹脂，分別自病人血漿中純化不同的免疫球蛋白，與 matrix 混合後，再用 MALDI-TOF 質譜儀分析，細節如參考文獻 1。在實際操作上，這些純化及上機過程，如果要由醫檢師一個檢體一個檢體處理，將會非常耗費人力，因此該實驗室與儀器廠商合作，發展出自動化的 Liquid handler，只要把檢體置入，該自動化系統就會完成純化免疫球蛋白及混合 matrix 的過程。醫檢師再將純化好的檢體移至另一個自動打點的系統，便可以將檢體自動點在 MALDI-TOF 質譜儀分析盤中，待自然乾燥後，再移至 MALDI-TOF 質譜儀作分析。實驗室中儀器配置如下圖。



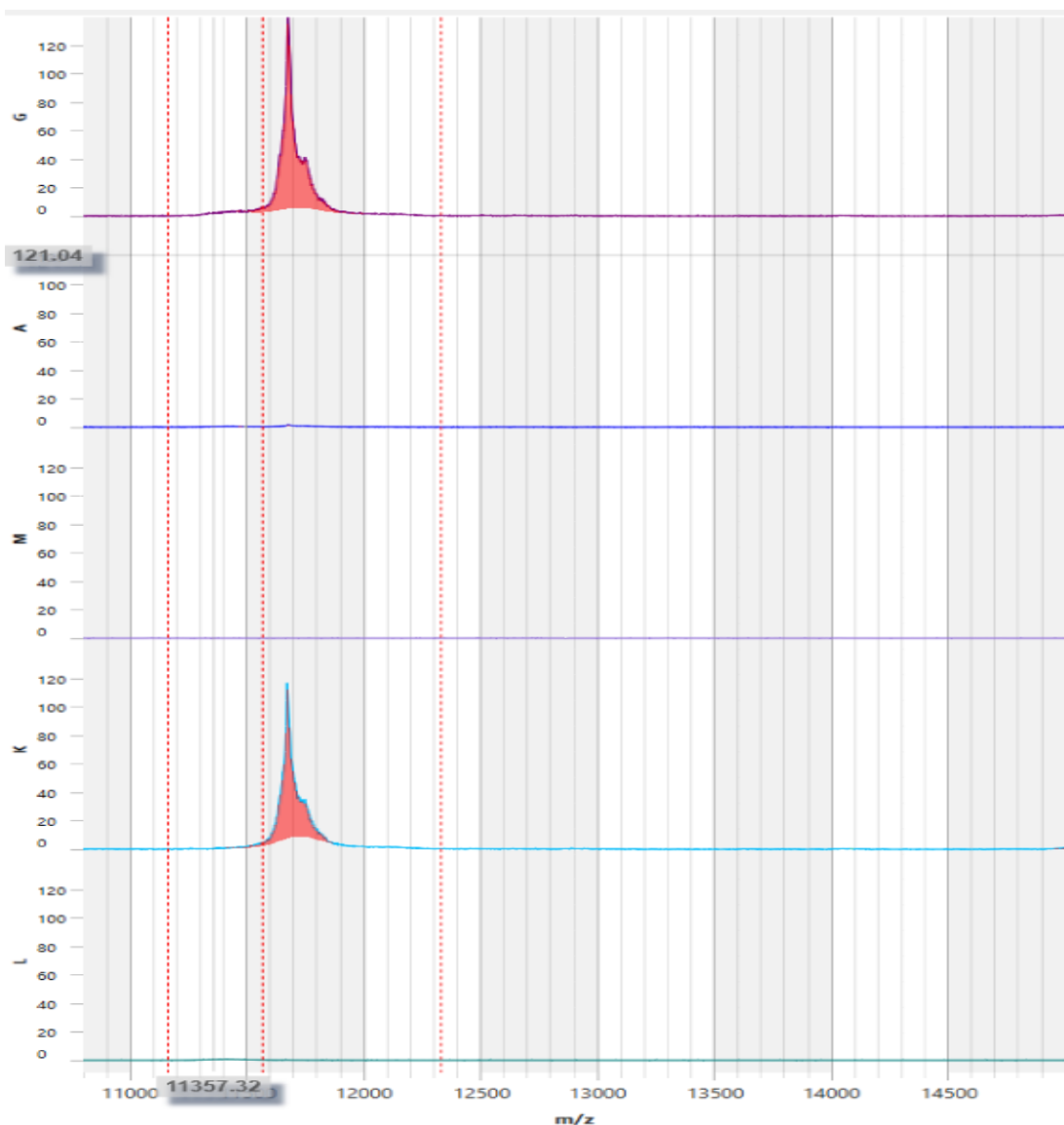
由於最耗費人力的部分都已使用自動化系統取代，因此實際操作檢驗的人力不多，即使如該院該檢驗平均一天高達 750 件檢體以上，一班只有二到三位醫檢師在處理，醫檢師其實花更多時間在質譜儀分析結果的判讀上。結果的判讀部分，需經一位醫檢師初步判讀，再由第二位較資深的醫檢師複判，若結果非常明顯無疑慮，第二位醫檢師就會直接簽發報告，但若複判時覺得結果有疑慮，會再由醫師或臨床化學專家判讀再發出報告。Mayo clinic 也發展出一套軟體協助判讀，該軟體會自動抓出可能的 M protein peaks 供判讀者參考，同時也自動計算出各個可能 peaks 的面積結果，作為計算 M protein 定量的依據。該軟體也可自動連接病人臨床資訊、相關檢驗結果及上次報告結果等，協助醫檢師及醫師判讀。

結果的判讀需要相當經驗累積及臨床知識，才能熟悉質譜儀分析結果的圖形，判斷哪些是正常的曲線，哪些存在有問題的尖峰。下圖為正常無 M protein 所作出來質譜圖形。由上到下分別是同一位病人純化之 IgG、IgA、IgM、kappa chain 及 lambda chain 作 MALDI-TOF 質譜分析後的圖形，可以看到五個圖形均是相對平緩的「山坡」而非「山峰」，「山坡」上雖然似乎有些個別小尖峰，但應都是分析中難以避免的小雜訊，可以忽略。



至於有 M protein 的圖形便很不一樣，如下圖。在 IgG 及 kappa chain 質譜圖形中可以看到各有一個「山峰」，與正常之「山坡」形式有明顯不同。且由於異常的 M protein 製造，使得其他正常免疫球蛋白製造相對受抑制，因此其他 IgA、IgM 及 lambda chain 的量均明顯不如正常。由此圖可知病人血漿中具有 IgG/kappa 之 M protein。另外圖中紅色之面積為軟體自動分析並計算該面積，配合測量 IgG 之總量，可以算出該病人血漿 M protein 之總量。MASS-FIX 過去只能定性 M protein，但引入面積計算佔總免疫球蛋白量之比例後，已經可以同時取代傳統血清蛋白電

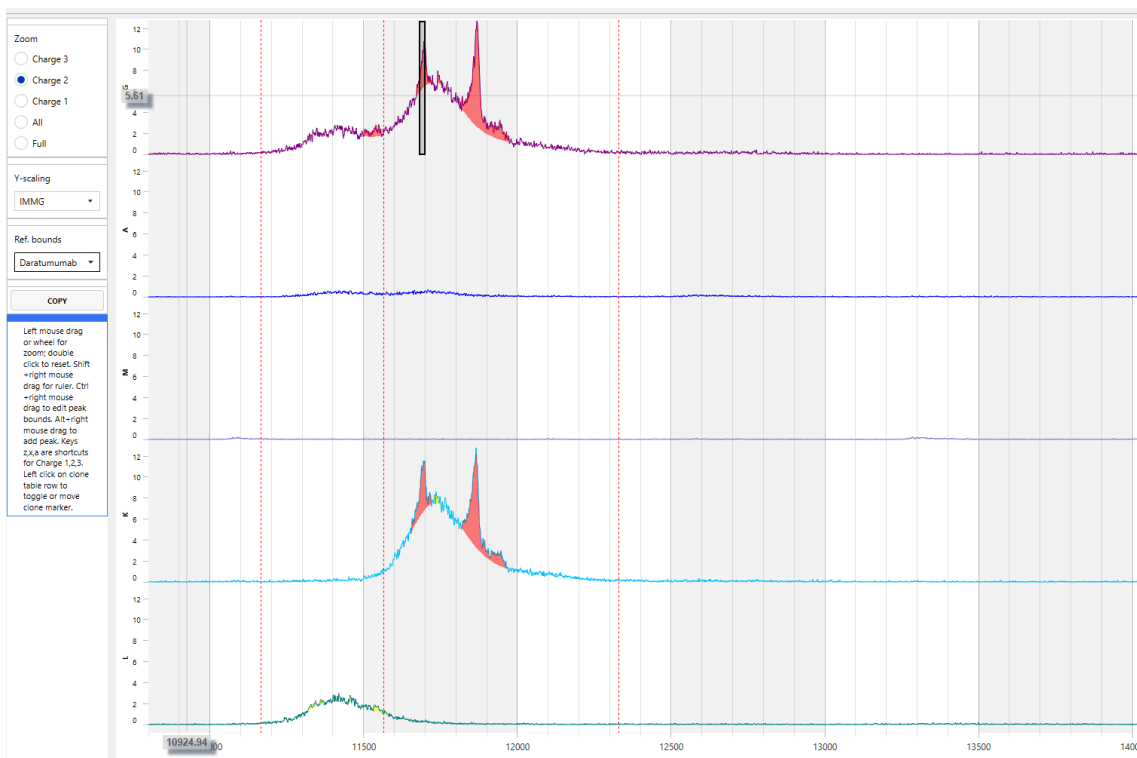
泳定量與血清免疫電泳分析(IFE)定性的角色。一個檢驗取代過去的兩個檢驗，更見 MASS-FIX 的優勢。



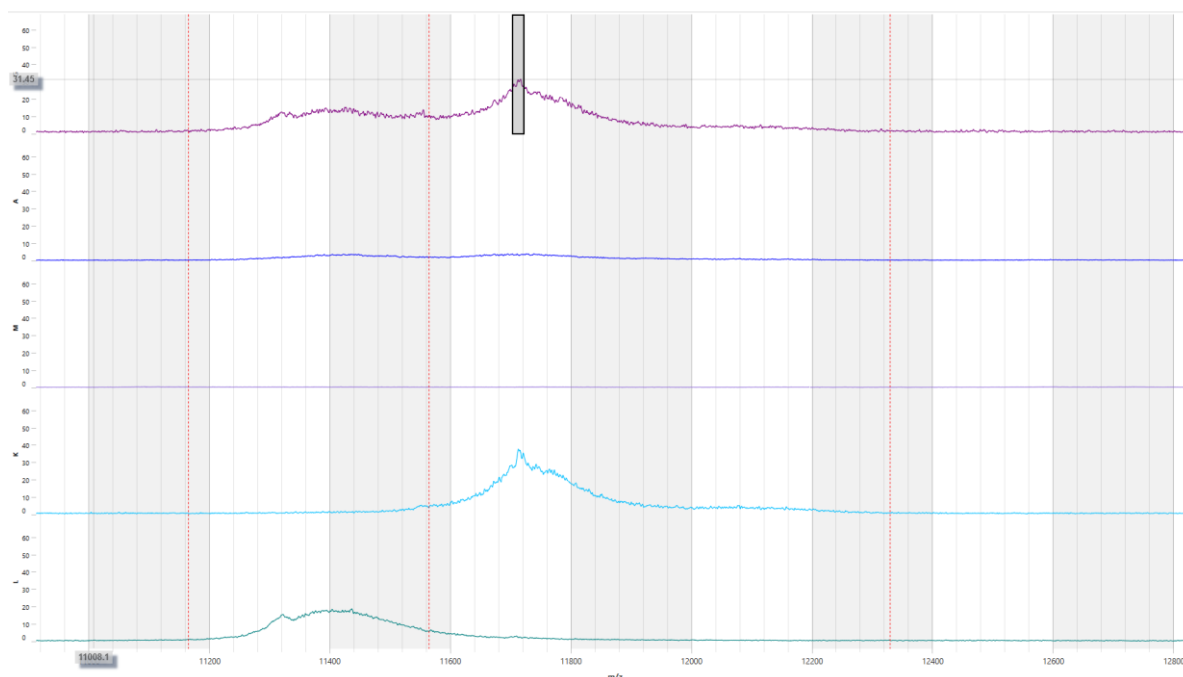
隨著藥物的進步，愈來愈多治療性的單株抗體藥物也用於治療多發性骨髓瘤病人，也因此治療後追蹤時，分辨治療性單株抗體及病人病理性 M protein 也愈來愈重要。由於絕大多數治療性抗體為 IgG/kappa，若病人病理性 M protein 也是 IgG/kappa 時，便可能無法由傳統的血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析區分到底病人血漿中的 monoclonal gammopathy 是我們治療性抗體還是殘存的病理性 M protein。MASS-FIX 能輕易地解決這個問題：由於治療性單株抗體都有特定的分子量，由質譜分析上尖峰所在位置的分子量便可推知該尖峰是治療性單株抗體還是病理性 M protein。如下圖的例子，該病人血漿存在有二個 IgG/kappa M proteins，其中之一與 Daratumumab 這種 anti-CD38 antibody 之分子量相同(細長方形長條處)。可知該病人經 Daratumumab 治療後，血漿中除了 Daratumumab 的治療性抗體



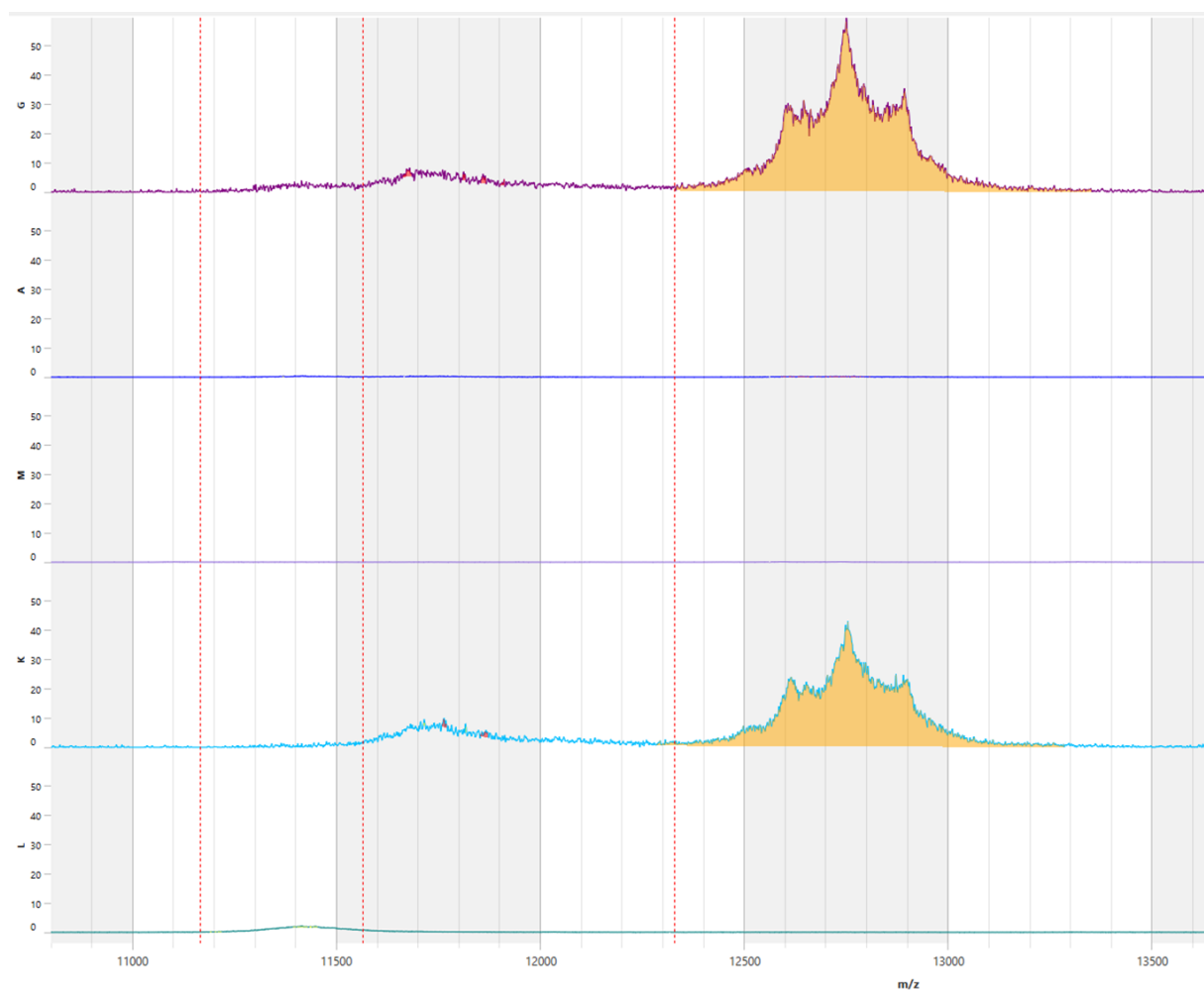
外，原本之病理性 M protein 仍然存在。



新的單株抗體藥物愈來愈多，未來這方面的困擾也會愈來愈明顯。Mayo clinic 發展的軟體中，只要點選特定治療性單株抗體藥物名稱，便會在相對應的分子量位置標示細長方形，方便對照病人的質譜圖形尖峰位置。下圖為使用 Elotuzumab 治療後病人追蹤之結果。由質譜分析中仍可以看見一個 IgG/kappa monoclonal gammopathy，但該位置符合 Elotuzumab 分子量，可知已無原本之病理性 M protein。



另外，Mayo clinic 研究團隊在臨床檢驗過程中，發現部分 monoclonal gammopathy 病人的 M protein light chain 上具有 N-glycosylation。一般而言，正常的免疫球蛋白上在 heavy chain 上會有 glycosylation，但在 light chain 上有 glycosylation 相對少見。經該團隊研究，發現若 MGUS 患者的 M protein light chain 上有 N-glycosylation，則日後進展成多發性骨髓瘤的風險較高，也較有可能出現類澱粉沉積(amyloidosis)的情形(詳細見參考文獻 2, 3, 4)。在 MASS-FIX 上，很容易就能看到是否有 light chain glycosylation 的情形，如下圖案例，以一般正常 light chain 分子量，應落在下圖中三條紅色虛線範圍內，但該案例具有明顯較高分子量的 IgG/kappa monoclonal gammopathy，其具有較高分子量的原因就在於其 light chain 上具有 glycosylation。不需要額外的檢驗就可以發現病人可能具有疾病進展的不良預後因子，這亦是傳統血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析無法作到的。



## 參、心得

Mayo clinic 不愧是多次被評選為全美第一，甚至是全世界頂尖的醫療及研究機構，他們悠久的歷史、龐大的規模、驚人的檢驗量都令人印象深刻。但更令我驚艷的是他們對於前往訓練者非常重視，不只有專門安排課程的人員，課程也極有彈性，可隨訓練學員的需求機動且快速作出調整。而且所有教授、醫師、醫檢師都非常友善，願意隨時回答學員的問題，即使一時不知道答案，也會非常熱心的幫忙找答案或找其他專業人員協助解答。這三週期間，他們也歡迎短期受訓者參加他們平時的行政會議或研究會議，能夠了解該實驗室日常的運作及目前正在進行的研究。

在關於 MASS-FIX 部分，該檢驗方式在 Mayo clinic 已經非常成熟，且完全取代傳統的血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析，且具有許多好處，如敏感度更高、定量更準確、能辨別治療性抗體藥物與病理性 M protein、及識別具 glycosylated light chain 能力等。且在自動化機器的幫助之下，甚至比傳統的血清蛋白電泳與血清免疫電泳分析更節省檢驗人力，該檢驗方法也獲得國際骨髓瘤工作組(IMWG)專家會議認可，取代傳統血清蛋白電泳，作為診斷及追蹤多發性骨髓瘤患者的檢驗方法(詳細參見參考文獻 5)。但由於此方法相較於傳統血清免疫電泳分析更為敏感，可以偵測到極低量的 M protein 存在，若全面改用此方法定義多發性骨髓瘤的治療反應，恐怕所有治療指引都要改寫，因此國際骨髓瘤工作組(IMWG)專家會議提醒若使用該方法追蹤的研究，不應與其他使用傳統方法追蹤之研究直接比較。

已有初步回溯性研究發現，使用 MASS-FIX 追蹤微量殘存疾病(minimal residual disease, MRD)能夠有效預測病人之預後，與目前已被國際學界廣泛認可的次世代流式細胞儀(next generation flow cytometry, NGF)方法不相上下(詳細見參考文獻 6)，甚至在某些狀況比次世代流式細胞儀更具預測能力。但流式細胞儀需要抽取骨髓作檢驗，而 MASS-FIX 只需抽週邊血，相對侵入性較低，病人接受度也較高，相信會是未來的發展趨勢。

然而目前此一檢驗方法，普遍性仍低，即使在美國也只有 Mayo clinic 能執行。其研究團隊將此智慧財產權授權 Thermo Fisher 旗下的 Binding Site 公司，該公司據此發展出 EXENT 系統，並獲得歐盟 IVDR 許可，目前在歐盟數個國家可以執行常規檢驗，而亞洲目前仍無國家引進或獲得許可。

## 肆、建議事項

首先，由上述報告及參考文獻可知，**MASS-FIX** 是非常敏感且具有預測病人預後之檢驗方法，相信是未來 **M protein** 檢驗的趨勢。該檢驗方法目前在世界範圍內仍不普及，亞洲國家目前都沒有該項檢驗，但是是值得引進以造福病人與提升骨髓瘤臨床研究水準的檢驗。在尚無廠商引入且未通過臺灣查驗登記前，建議本院可以考慮經由 **LDT** 的方式引進，應用於臨床病人照顧上，使本院關於 **M protein** 的檢驗與多發性骨髓瘤病人的治療與追蹤居於亞洲前端。雖然前期整體建置成本較高，但如果未來有機會透過相關學會收檢全國骨髓瘤病人檢體，便可以降低檢驗成本，同時也造福全國的多發性骨髓瘤病人。

其次是關於教學方面，**Mayo clinic** 對於短期國外訓練者的接待十分令人印象深刻，除了有專人安排課程外，還能快速根據學員需求作出調整。每個部門也都有個別針對短期訓練者的完整課程安排。即使是短期學員，也有提供附電腦的座位、登入其院內系統的適當權限帳號密碼、和使用該院相關資源的權限。本院雖然有教學部安排短期訓練者訓練課程，但沒有專屬座位，也常常沒有權限可以登入院內系統，進入各科部訓練時常常也缺乏真正完整的課程規畫。本院對於短期國內外訓練者的接待有可以進步的空間。

## 伍、參考文獻

1. Kohlhagen, M. *et al.* Automation and validation of a MALDI-TOF MS (Mass-Fix) replacement of immunofixation electrophoresis in the clinical lab. *Clin Chem Lab Med* **59**, 155-163 (2020).
2. Dispenzieri, A. *et al.* N-glycosylation of monoclonal light chains on routine MASS-FIX testing is a risk factor for MGUS progression. *Leukemia* **34**, 2749-2753 (2020).
3. Kourelis, T. *et al.* MASS-FIX may allow identification of patients at risk for light chain amyloidosis before the onset of symptoms. *Am J Hematol* **93**, E368-E370 (2018).
4. Mellors, P.W. *et al.* MASS-FIX for the detection of monoclonal proteins and light chain N-glycosylation in routine clinical practice: a cross-sectional study of 6315 patients. *Blood Cancer J* **11**, 50 (2021).
5. Murray, D.L. *et al.* Mass spectrometry for the evaluation of monoclonal proteins in multiple myeloma and related disorders: an International Myeloma Working Group Mass Spectrometry Committee Report. *Blood Cancer J* **11**, 24 (2021).
6. Dispenzieri, A. *et al.* Mass-Fix better predicts for PFS and OS than standard methods among multiple myeloma patients participating on the STAMINA trial (BMT CTN 0702 /07LT). *Blood Cancer J* **12**, 27 (2022).