



PLA2R 及其抗体与特发性膜性肾病关系的研究进展

盛茜¹, 肖胜², 谢席胜³, 简讯²

(1. 川北医学院临床医学系, 四川 南充 637000;

2. 四川省绵阳四〇四医院, 四川 绵阳 621000;

3. 四川省南充市中心医院, 四川 南充 637000)

摘要: 特发性膜性肾病(IMN)是一种器官特异性自身免疫性足细胞病。循环中的自身抗体与足突上的靶抗原结合形成免疫复合物沉积在上皮下,激活补体系统导致肾小球毛细血管壁损伤,出现蛋白尿。自 21 世纪初以来,对于人类膜性肾病的分子病理学方面研究取得了相当大的进展,其灵感来自对实验模型 Heymann 肾炎的研究,随后逐渐发现了包括中性肽链内切酶(neutral endopeptidase, NEP)、M 型磷脂酶 A2 受体(phospholipase A2 receptor, PLA2R)、醛糖还原酶(aldehyde reductase, AR)、超氧化物歧化酶 2(superoxide dismutase 2, SOD2)、a 烯醇化酶(a-enolase, ENO)、1 型血小板反应蛋白 7A(thrombospondin type-1 domain-containing 7A, THSD7A)等一系列抗原。这些抗原通过与其相应的抗体结合产生原位或者循环免疫复合物导致足细胞损伤,从而致病。PLA2R 作为诊断和治疗 IMN 的新兴标志物,本文就 PLA2R 及其抗体与 IMN 的相关性进行综述。

关键词: 特发性膜性肾病; 磷脂酶 A2 受体; 磷脂酶 A2 受体抗体

中图分类号: R692.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2020)03-0372-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2020.03.026

膜性肾病可分为特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)和继发性膜性肾病(secondary membranous nephropathy, SMN)两大类, SMN 多由自身免疫性疾病、感染、肿瘤、药物等引起,病因未明者称为 IMN。IMN 是中老年人原发性肾病综合征(NS)的最常见疾病,国外报道占成人原发性肾病综合征的 20%~40%,我国报道占原发性肾小球疾病的 10%~15%。IMN 多见于男性,一般发生在 40 岁以上,儿童少见。其起病缓慢,多以蛋白尿为主要表现,自然病程差别大,25%可自发缓解,30%~40%的患者可进展为终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)^[1]。

1 PLA2R 结构与生理、遗传学证据及抗体致病机制

1.1 PLA2R 的结构与生理 PLA2R 包括神经型和肌肉型 2 种受体,肌肉型 PLA2R,即为 M 型 PLA2R。M 型磷脂酶 A2 受体(M-type phospholipase A2 receptor, M-type PLA2R,本文中简称 PLA2R)是一种约 185 kDa 的糖蛋白,能与分泌型磷脂酶 A2(secretory phospholipase A2, sPLA2)相结合,它表达于人体肺脏、胎盘及肾脏等器官。足细胞是终末分化的上皮

细胞,是肾小球滤过膜的重要组成部分。2009 年, Beck LH Jr 等^[2]通过对特发性、继发性膜性肾病、其他蛋白尿或自身免疫性疾病的患者和正常对照者的血清样本采用 Western-blot 检测方法,首次发现了抗磷脂酶 A2 受体的自身抗体,同时证实了其可能为 IMN 的靶抗原。

PLA2R 是 I 型跨膜糖蛋白,甘露糖受体(mannose receptors, MR)家族的成员。MR 家族的所有成员都具有大的细胞外糖基化区域,其包含 N 末端富含半胱氨酸的结构域(CysR)、类似纤连蛋白的 II 型结构域(Fn II)和 8~10 个 C 型凝集素样结构域(CTLD1-10)。M 型 PLA2R 与 PLA2R 抗体结合后,能够利用 N-末端中的钙依赖磷脂结合结构域(C2 domain),驱动其由胞质转运到胞膜,进而水解花生四烯酸(arachidonic acid, AA),促进炎症介质释放以参与炎症反应。Pan Yangbin 等^[3]通过试验表明分泌型磷脂酶 A2-IB 亚型(sPLA2-IB)与 PLA2R 结合后通过活化 p38-cPLA2 α -p53 信号通路导致细胞凋亡并降低细胞活动。

1.2 PLA2R 参与 IMN 的遗传学证据 研究表明^[4-9],遗传因素在 IMN 发病中起着重要作用,

基金项目: 四川省医学科研青年创新课题(Q16060)

第一作者简介: 盛茜(1993-),女,在读硕士研究生,研究方向:抗磷脂酶 A2 受体在膜性肾病的诊断与治疗中的作用, E-mail: 1137640182@qq.com

通讯作者简介: 简讯(1975-),男,硕士,主任医师,研究方向:膜性肾病的诊治, E-mail: 191437574@qq.com

PLA2R1 和 HLA-DQA 均可导致 IMN。关于遗传因素的研究早年间主要集中在欧美国家,而近几年,主要集中在亚洲,特别是日本和中国。Ramachandran R 等^[4]关于印度人群的报告,PLA2R1 中的 SNP rs3749119、rs3749117、rs4664508 和 HLA-DQA1 的 rs2187668 与 IMN 显著相关,且 SNP rs2187668 与抗 PLA2R 抗体阳性具有相关性。一项日本研究报道了 HLA-DRB1 * 15 : 01-DQB1 * 06 : 02 单倍型与 IMN 的相关性,但没有区分主要风险等位基因^[5]。而 Latt KZ 等^[6]证明了日本主要风险等位基因是 rs4664308,其次为 rs3749119。另外一项关于日本人群的研究,选取之前证明与欧洲白人 IMN 显著相关联的 6 个 SNP,得出其中 3 个 SNP (rs3749117、rs35771982 和 rs2715918) 与该日本研究人群 IMN 的发生显著相关,而 3 个 SNP (rs3749119、rs4665143 和 rs382832) 不相关,而 HLA-DQA1 SNP 则与欧洲人一致,这种不完全一致性表明种族和地域差异确实存在^[7]。中国的报告也提出 HLA-DRB1 * 15 : 01 和 DRB1 * 03 : 01 作为 IMN 的独立风险等位基因,并且与循环抗 PLA2R 抗体滴度相关^[8]。Le WB 等^[9]另外发现 HLA-DRB3 * 02 : 02 与 PLA2R 相关 IMN 的风险增加独立且强烈相关。

1.3 抗 PLA2R 抗体致病机制 导致膜性肾病的三种可能的免疫机制:①预先形成的免疫复合物;②原位免疫复合物沉积;③足细胞自身抗原,包括 PLA2R。抗 PLA2R 抗体主要以 IgG4 形式存在,抗 PLA2R 抗体与肾小球上的 PLA2R 抗原结合形成免疫复合物,激活补体导致足细胞损伤,致使蛋白尿的发生,即免疫复合物形成并进一步激活补体系统是 IMN 主要发病机制。补体的激活主要通过三种途径,经典途径、替代途径(alternate pathway, AP)和凝集素途径(mannan-binding lectin, MBL)。Luo W 等^[10]研究表明, IgG4 可以通过凝集素途径导致 C3c 和 C5b-9 的肾小球沉积,同时发现了 AP 在膜性肾病小鼠模型中的作用,但该途径的致病机制目前还不清楚。然而, MBL 缺乏患者中也发生 IMN,表明凝集素途径并非惟一途径,最近发现钙调神经磷酸酶 B1 亚基(CnB1)(通过激活 AP 途径)也可导致 IMN,从而给 IMN 的发病机制提供了新的见解^[11-12]。关于抗体致病机制的研究还需要更多的动物试验来进一步明确。

2 抗 PLA2R 抗体的测量方法

目前检测膜性肾病抗 PLA2R 抗体的方法主要有三种,即免疫印迹法(Western-blot)、酶联免疫吸附试验(ELISA)和免疫荧光法(IIFT/IFA)。2009年, Western-blot 方法由 Beck LH Jr 等^[2]首次提出,该方法具有高特异性及高敏感性的优点,但步骤繁琐、成本

昂贵、操作干扰因素较多,因此不适用于临床的大范围检测;目前可用于临床的仅 2 种: IFA 和 ELISA。ELISA 法既可定量又可定性,结果不受主观因素影响,不需特殊仪器(如荧光显微镜),具有快速、灵敏、简便的优点,能较准确地测得抗 PLA2R 抗体水平的变化,相比而言更适用于临床。IFA 法适合于小样本量检测,其具有半定量性质,并且操作复杂,结果判断因个人主观经验对结果的影响较大使其不太适合监测疾病进展和治疗反应。Behnert A 等^[13]提出了另一种血清学方法检测出 PLA2R1 抗体,即寻址激光免疫测定(ALBIA),并且 ALBIA 与 IFA 优于 ELISA ($P = 0.0003$),并且其敏感性/特异性分别为 60.00%/98.60%和 56.20%/100.00%。该方法具有易于使用、适用于高通量、有快速周转时间和重复使用的特点。而我国学者新提出了抗 PLA2R-IgG 抗体时间分辨荧光免疫分析(TRFIA)方法^[14-16],并将此技术应用与膜性肾病的研究,但是目前该方法还需要更多的相关临床证据来证明其对 IMN 的诊断价值。

3 PLA2R 及其抗体在 IMN 的诊断、病情评估、治疗和预后的价值

3.1 PLA2R 及其抗体与 IMN 诊断 IMN 诊断的金标准是肾活检,血清中抗 PLA2R 抗体的检测和肾小球 PLA2R 的检测是诊断 IMN 的重要手段。总体来说,抗体阳性率在 50%~80%不等,不同地域和不同种族,抗 PLA2R 抗体阳性率有一定的差异。

3.1.1 欧美人群 关于欧美人群的研究主要集中在抗体发现早期 Beck LH Jr 等^[2]首次提出,在美国人群中,大约 70%的 IMN 患者血清中存在 PLA2R 自身抗体;而近年来, Jatem Escalante E 等^[17]的回顾性研究得出的阳性率为 64%。法国 Pourcine F 等^[18]的研究得出阳性率为 77.8%,该研究同 Beck LH Jr 等^[2]的研究结论相似。而希腊一项研究发现^[19],当界定抗体滴度 < 20 RU/ml 或者 14 RU/ml 为阴性时,得出抗体阳性率为 48.5%;当界定抗体滴度 < 2 RU/ml 为阴性时,阳性率提升为 57.6%,说明界定值是影响抗体阳性率的一项重要因素。

3.1.2 亚洲人群 关于亚洲人,抗体滴度从 40%~70%不等,比欧美的抗体阳性率稍低; Han WW 等^[20]的结果显示抗体阳性率为 71.43%。2016年, Qin HZ 等^[21]的一项研究得出血清抗 PLA2R 抗体阳性率为 68.5%;而日本 Akiyama S 等^[22]报道, 53% IMN 患者的抗 PLA2R 抗体阳性,同年 Iwakura T 等^[23]也得出一致结论。韩国 Song EJ 等^[24]的结论为 52.1%,这与 Akiyama S 等^[22]、Iwakura T 等^[23]的结论相似。Qu Z 等^[25]通过对中国 IMN 患者研究发现,通过 IFA 检测,抗 PLA2R 抗体的阳性率为 65.2%,通过 ELISA 检测

为56.3%，进一步说明检测方法可影响抗体阳性率。

总之，抗PLA2R抗体具有高灵敏度和特异度。诊断阈值是影响阳性率的重要因素之一，目前普遍认为ELISA的诊断截断值为14 RU/ml，而Tampoia M等^[26]认为当截断值为2.7 RU/ml时，其敏感性和特异性分别为88.1%和96%。中国学者Liu Y等^[27]推荐将临界值2.6 RU/ml用于诊断中国IMN患者，并且此时其敏感性和特异性分别为78.9%和91.7%。另一研究表明，将血清PLA2R-Ab和肾脏中PLA2R-Ag检测相结合，PLA2R自身免疫检测灵敏度从77.8%上升到89.6%，并且还能鉴别特发性和继发性膜性肾病^[18]。因此血清抗体与肾小球抗原检测相结合更具有诊断价值。

3.2 PLA2R及其抗体与IMN病情评估、治疗和评估预后 PLA2R作为IMN的主要抗原，其滴度与疾病活动性、缓解率和监测治疗反应有关，同抗体阳性者相比较，抗PLA2R抗体完全阴性患者能获得更好的缓解率。一项荟萃分析结果^[28]证实，抗PLA2R阴性的IMN患者获得缓解的可能性比抗PLA2R阳性的患者高1.31倍。另外一项荟萃分析^[29]提出，sPLA2R-Ab是临床缓解的重要预测因素。Pourcine F等^[18]一项研究表明，治疗前，PLA2R-Ab阳性率为78.8%，治疗6个月后，疾病缓解率为66.1%；其中在自发缓解的患者中，PLA2R-Ab患阴性率为61.5%，而在没有缓解的患者中阴性率为9.1%，说明没有缓解的患者中大部分抗体阳性，即抗体影响，并且达到自发缓解的患者的PLA2R-Ab滴度更低。Yan Wang等^[30]研究也表明PLA2R阴性的IMN患者更容易进入缓解期(68.4%)，并且动态监测PLA2R滴度有助于诊断IMN和监测疾病的活动。Qin HZ等^[21]的研究同时监测了血清PLA2R-Ab和肾小球PLA2R-Ag，治疗1年后，两者均阳性组完全缓解率为35.6%，而仅肾小球PLA2R-Ag阳性组完全缓解率为61.1%，进一步说明血清抗体是监测治疗反应的一项重要指标。膜性肾病的一个重要表现就是蛋白尿，临床对于疾病的缓解率检测主要以蛋白尿的监测为主。而Guo W等^[31]的研究支持血清PLA2R-Ab与尿蛋白呈正相关，与肾功能负相关。Qu Z等^[25]的研究也支持上述结论。意大利学者Ruggenti P等^[32]也认为循环抗PLA2R抗体的连续评估可以帮助监测利妥昔单抗治疗反应和预测疾病复发风险。有研究提出，抗体滴度还可以监测肾移植后的复发风险^[33]。

4 总结和展望

因此，我们可以总结出结论：膜性肾病的缓解率和抗体滴度负相关；抗体滴度和尿蛋白正相关，但是抗体滴度下降比尿蛋白的下降晚；抗体重新出现或者滴度

增加比肾脏表现更早发生。但是目前，关于抗体滴度监测缓解率和复发时的具体值，很多研究还未具体描述，未来还需要更多的大型临床研究来进一步解答。

参考文献：

- [1] 谌贻璞. 肾内科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:39.
- [2] Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy[J]. N Engl J Med, 2009, 361(1): 11-21.
- [3] Pan Yangbin, Ke Hongting, Wan Jianxin, et al. Role of the secretory PLA2-IB and PLA2R in human podocyte injury and its possible mechanism[J]. Chinese Journal of Nephrology, 2017, 33(9): 691-697.
- [4] Ramachandran R, Kumar V, Kumar A, et al. PLA2R antibodies, glomerular PLA2R deposits and variations in PLA2R1 and HLA-DQA1 genes in primary membranous nephropathy in South Asians[J]. Nephrol Dial Transplant, 2016, 31(9): 1486-1493.
- [5] Thiri M, Honda K, Kashiwase K, et al. High-density Association Mapping and Interaction Analysis of PLA2R1 and HLA Regions with Idiopathic Membranous Nephropathy in Japanese[J]. Sci Rep, 2016(6): 38189.
- [6] Latt KZ, Honda K, Thiri M, et al. Identification of a two-SNP PLA2R1 Haplotype and HLA-DRB1 Alleles as Primary Risk Associations in Idiopathic Membranous Nephropathy[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 15576.
- [7] Kaga H, Komatsuda A, Omokawa A, et al. Analysis of PLA2R1 and HLA-DQA1 sequence variants in Japanese patients with idiopathic and secondary membranous nephropathy[J]. Clin Exp Nephrol, 2018, 22(2): 275-282.
- [8] Cui Z, Xie LJ, Chen FJ, et al. MHC Class II Risk Alleles and Amino Acid Residues in Idiopathic Membranous Nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(5): 1651-1664.
- [9] Le WB, Shi JS, Zhang T, et al. HLA-DRB1 * 15 : 01 and HLA-DRB3 * 02 : 02 in PLA2R-Related Membranous Nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(5): 1642-1650.
- [10] Luo W, Olaru F, Miner JH, et al. Alternative Pathway Is Essential for Glomerular Complement Activation and Proteinuria in a Mouse Model of Membranous Nephropathy[J]. Front Immunol, 2018(9): 1433.
- [11] Zhu Y, Zhang M, Wang F, et al. Calcineurin B1 subunit in human peripheral blood mononuclear cells and its role in idiopathic membranous nephropathy [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(15): e15231.
- [12] Bally S, Debiec H, Ponard D, et al. Phospholipase A2 Receptor-Related Membranous Nephropathy and Mannan-Binding Lectin Deficiency[J]. J Am Soc Nephrol,

- 2016,27(12):3539-3544.
- [13] Behnert A, Schiffer M, Müller-Deile J, et al. Antiphospholipase A2 receptor autoantibodies; a comparison of three different immunoassays for the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy[J]. *J Immunol Res*, 2014,2014:143274.
- [14] 黄飏,王凉,肖华龙,等. M 型磷脂酶 A2 受体抗体高灵敏度方法的建立及临床应用[J]. *中国实验诊断学*, 2017,21(11):1927-1932.
- [15] Zhang Q, Huang B, Liu X, et al. Ultrasensitive Quantitation of Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody as A Diagnostic and Prognostic Indicator of Idiopathic Membranous Nephropathy[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1):12049.
- [16] Huang B, Wang L, Zhang Y, et al. A novel Time-resolved Fluoroimmunoassay for the quantitative detection of Antibodies against the Phospholipase A2 Receptor [J]. *Sci Rep*, 2017(7):46096.
- [17] Jatem Escalante E, Segarra Medran A, Carnicer Cáceres C, et al. Clinical features, course and prognosis of idiopathic membranous nephropathy depending on the presence of antibodies against M-type phospholipase A2 receptor[J]. *Nefrologia*, 2015,35(5):479-486.
- [18] Pourcine F, Dahan K, Mihout F, et al. Prognostic value of PLA2R autoimmunity detected by measurement of anti-PLA2R antibodies combined with detection of PLA2R antigen in membranous nephropathy: A single-centre study over 14 years [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173201.
- [19] Provatopoulou S, Kalavrizioti D, Stangou M, et al. Circulating anti-phospholipase A2 receptor antibodies as a diagnostic and prognostic marker in Greek patients with idiopathic membranous nephropathy—a retrospective cohort study[J]. *Romanian Journal of Internal Medicine*, 2019,57(2):141-150.
- [20] Han WW, Tang LJ, Kong XL, et al. Clinical significance of autoantibodies in the assessment and treatment of idiopathic membranous nephropathy[J]. *Exp Ther Med*, 2019,17(3):1825-1830.
- [21] Qin HZ, Zhang MC, Le WB, et al. Combined Assessment of Phospholipase A2 Receptor Autoantibodies and Glomerular Deposits in Membranous Nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016,27(10):3195-3203.
- [22] Akiyama S, Akiyama M, Imai E, et al. Prevalence of anti-phospholipase A2 receptor antibodies in Japanese patients with membranous nephropathy [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015,19(4):653-660.
- [23] Iwakura T, Ohashi N, Kato A, et al. Prevalence of Enhanced Granular Expression of Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A in the Glomeruli of Japanese Patients with Idiopathic Membranous Nephropathy [J]. *PLoS One*, 2015,10(9):e0138841.
- [24] Song EJ, Jeong KH, Yang YA, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody as a prognostic marker in patients with primary membranous nephropathy[J]. *Kidney Research and Clinical Practice*, 2018,37(3):248-256.
- [25] Qu Z, Zhang ME, Cui Z, et al. Antibodies against M-Type Phospholipase A2 Receptor May Predict Treatment Response and Outcome in Membranous Nephropathy[J]. *Am J Nephrol*, 2018,48(6):438-446.
- [26] Tampoia M, Migliucci F, Villani C, et al. Definition of a new cut-off for the anti-phospholipase A2 receptor (PLA2R) autoantibody immunoassay in patients affected by idiopathic membranous nephropathy[J]. *J Nephrol*, 2018,31(6):899-905.
- [27] Liu Y, Li X, Ma C, et al. Serum anti-PLA2R antibody as a diagnostic biomarker of idiopathic membranous nephropathy: The optimal cut-off value for Chinese patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2018,476:9-14.
- [28] Li W, Zhao Y. Prognostic value of phospholipase A2 receptor in primary membranous nephropathy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(9):1581-1596.
- [29] Liang Y, Wan J, Chen Y, et al. Serum anti-phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody detected at diagnosis as a predictor for clinical remission in patients with primary membranous nephropathy: a meta-analysis [J]. *BMC Nephrol*, 2019,20(1):360.
- [30] Yan Wang, Mei-Ling Su, Ai-Ping Zheng, et al. Anti-M-type phospholipase A2 receptor antibody diagnosing and monitoring disease activity in idiopathic membranous nephropathy: a single center and retrospective cohort study [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2016,9(12):23351-23362.
- [31] Guo W, Zhang Y, Gao C, et al. Retrospective study: clinicopathological features and prognosis of idiopathic membranous nephropathy with seronegative anti-phospholipase A2 receptor antibody[J]. *Peer J*, 2020,8:e8650.
- [32] Ruggenenti P, Debiec H, Ruggiero B, et al. Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody Titer Predicts Post-Rituximab Outcome of Membranous Nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015,26(10):2545-2558.
- [33] De Vriese AS, Glasscock RJ, Nath KA, et al. A Proposal for a Serology-Based Approach to Membranous Nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017,28(2):421-430.

收稿日期:2019-10-14;修回日期:2019-11-20