

特发性膜性肾病患者血清抗 PLA2R 抗体表达研究*

朱涛^{1,2}, 赵涌¹, 彭梦乐¹, 施小晴¹, 秦东春¹ (1. 郑州大学第一附属医院检验科, 郑州 450052; 2. 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室, 郑州 450052)

摘要:目的 分析特发性膜性肾病患者血清抗 PLA2R 抗体的表达, 探讨其在特发性膜性肾病诊断及病情评估中的价值。方法 收集经肾活检确诊的 118 例肾小球疾病患者, 其中包括 97 例 IMN 和 21 例 IgA 肾病与 19 例健康体检者作为研究对象, 应用 ELISA 法检测血清抗 M 型磷脂酶 A2 受体(PLA2R)抗体表达水平, 并分析其与 IMN 患者血清清蛋白, 24 h 尿蛋白量等指标的相关性。结果 IMN 组, IgA 肾病组及健康体检组血清抗 PLA2R 抗体含量中位数分别为 45.2(3.6~705.9)RU/ml, 5.9(2.3~10.6)RU/ml 和 1.2(0.6~9.3)RU/ml, IMN 组血清抗 PLA2R 抗体含量高于 IgA 肾病组及健康体检组, 差异有统计学意义($t=-5.027, -3.077; P$ 均 <0.05); 97 例 IMN 患者中 76 例血清抗 PLA2R 抗体阳性, 阳性率为 78.35%, IgA 肾病组与健康体检组均未检出阳性样本。IMN 组患者血清抗 PLA2R 抗体与血清清蛋白呈负相关($r=-0.453, P<0.05$); 与肌酐、胆固醇、红细胞沉降率、24 h 尿蛋白呈正相关($r=0.233, 0.234, 0.363, 0.586; P$ 均 <0.05)。结论 血清抗 PLA2R 抗体可作为 IMN 特异性标志物用于 IMN 的血清学诊断, 并对评估 IMN 患者病情的严重程度有重要参考意义。

关键词:特发性膜性肾病; 抗 M 型磷脂酶 A2 受体抗体; IgA 肾病; 1 型血小板反应蛋白 7A 域

中图分类号:R692; R392.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2016)03-004-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.002

Expression of Serum Anti PLA2R Antibodies in Idiopathic Membranous Nephropathy

ZHU Tao^{1,2}, ZHAO Yong¹, PENG Meng-le¹, SHI Xiao-qing¹, QIN Dong-chun¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Clinical Medicine Key-Disciplines Laboratory, Henan Institution of Higher Learning, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Objective To analyze the expression of serum anti M phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody in idiopathic membranous nephropathy (IMN), and to investigate its value in the diagnosis and evaluation of idiopathic membranous nephropathy. **Methods** One hundred and eighteen patients with biopsy-proved glomerular diseases were involved in this study, including 97 cases with IMN, 21 cases with IgA nephropathy (IgAN) and 19 healthy people. ELISA was used to detect serum anti-PLA2R antibodies. Correlations of anti-PLA2R antibody level with laboratory parameters, including serum albumin, 24-hour urine protein of IMN patients were evaluated. **Results** The median of anti PLA2R antibody in IMN group, IgAN group and healthy group was 45.2(3.6~705.9)RU/ml, 5.9(2.3~10.6)RU/ml and 1.2(0.6~9.3)RU/ml. The levels of serum anti PLA2R antibody in IMN group were higher than those in IgA nephropathy group and healthy control group. The difference was statistically significant ($t=-5.027, -3.077; P=0.05$). Among 97 cases with IMN, 76 cases showed positive anti-PLA2R antibodies (positive rate 78.35%). There was none patient showed positive anti-PLA2R antibody respectively in IgAN and healthy people. Furthermore, anti-PLA2R antibody level was negatively correlated with serum albumin ($r=-0.453, P=0.000$) and positively correlated with CREA, TC, ESR, 24 hour urine protein ($r=0.233, 0.234, 0.363, 0.586; P=0.004, 0.217, 0.021, 0.000$) in IMN patients. **Conclusion** Serum anti PLA2R antibody may be used as a IMN specific marker for the diagnosis of IMN, and it has important reference value for evaluating the severity of IMN.

Keywords: idiopathic membranous nephropathy (IMN); anti M phospholipase A2 receptor antibody (PLA2R); IgA nephropathy (IgAN); thrombospondin type-1 domain-containing 7A (THSD7A)

特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)是成人原发性肾小球疾病的常见病理类型之一, 其发病机制尚不十分清楚, 由于临

床表现轻重不一且缺乏有效的血清标志物, 导致患者预后差异较大。自 2009 年 Beck 等^[1]在成人 IMN 患者血液中首次检测到了抗 M 型磷脂酶 A2

* 作者简介: 朱涛(1989-), 男, 在读硕士, 主要从事免疫学检验, Tel: 18237013803, E-mail: 18237013803@163.com。

通讯作者: 秦东春(1963-), 男, 博士, 主任技师, 主要从事免疫学检验与检验基础研究, E-mail: qindongchun@163.com。

受体 (M-type phospholipase A2 receptor, PLA2R) 的自身抗体, 陆续有文献报道 IMN 患者血清抗 PLA2R 的阳性率在 52%~82%^[2~5] 之间。但目前关于国人的报道较少而且样本量不多, 因此本实验我们增加样本量, 进一步探讨国内 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体的表达, 并评价其在 IMN 患者病情评估中的价值。

1 材料与与方法

1.1 研究对象 收集 2014 年 8 月~2015 年 3 月在郑州大学第一附属医院肾脏内科经病理证实的 IMN 及 IgA 肾病患者共 118 例, 其中 IMN 患者 97 例(男性 63 例, 女性 34 例, 平均年龄 48.3~16.1 岁); IgA 肾病患者 21 例(男性 12 例, 女性 9 例, 平均年龄 30.3~12.2 岁)。同时收集在我院进行健康体检者 19 例(男性 12 例, 女性 7 例, 平均年龄 45.9~6.3 岁)作为对照, 所有患者均排除肝炎、肿瘤、系统性红斑狼疮等疾病, 均无长期激素及免疫抑制剂应用史, 并且所有患者均知情同意。

1.2 仪器与试剂 血清抗 PLA2R 抗体检测试剂盒购自欧蒙生物技术有限公司, 操作按说明书进行; 罗氏 cobas-p8000 全自动生化分析仪及配套试剂完成对所有患者胆固醇(TC)、肌酐(CREA)、清蛋白(ALB)、24 h 尿蛋白的检测。

1.3 方法 血清抗 PLA2R 抗体含量检测采用 ELISA 法, TC, CREA 检测采用酶法, ALB 检测采用溴甲酚绿法, 尿蛋白检测采用比色法, 红细胞沉降率采用激光法。本研究血清抗 PLA2R 抗体含量的参考值为 0~14 RU/ml, 当待检者血清 PLA2R 水平超出临界值时, 即判定为阳性。

1.4 统计学分析 应用 SPSS17.0 进行统计学分析。计数资料以百分比表示, 抗 PLA2R 抗体, CREA, TC, 24 h 尿蛋白为非正态分布以中位数表示; 且各组样本方差不齐, 三组间比较采用 Kruskal-Wallis 非参数秩和检验, 两两比较采用 LSD-t 法, 关联性分析采用 spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清抗 PLA2R 抗体表达水平 IMN 组、IgA 肾病组及健康体检组血清抗 PLA2R 抗体含量中位数分别为 45.2(3.6~705.9)RU/ml, 5.9(2.3~10.6)RU/ml, 1.2(0.6~9.3)RU/ml, 三组血清抗 PLA2R 抗体含量总体分布不同, 差异有统计学意义($\chi^2 = 48.97, P = 0.000$); 与 IgA 肾病组比较, IMN 组血清抗 PLA2R 抗体含量升高, 差异有统计学意义($t = -5.027, P = 0.000$); 与健康体检组比较, IMN 组亦升高, 差异有统计学意义($t = -3.077, P = 0.002$), 而 IgA 肾病组与健康体检组

血清抗 PLA2R 抗体含量差异无统计学意义($t = -1.063, P = 0.213$)。

2.2 IMN 组患者血清抗 PLA2R 抗体与临床指标相关性 相关性分析显示, IMN 组患者血清抗 PLA2R 抗体与血清清蛋白呈负相关($r = -0.453, P = 0.000$); 与 24 h 尿蛋白、红细胞沉降率, TC, CREA 均呈正相关($r = 0.586, 0.234, 0.363, 0.233; P = 0.000, 0.017, 0.021, 0.004$)。

3 讨论 IMN 是成人肾病综合征的常见病因, 一直缺乏敏感、有效的临床血清学诊断指标, 确诊依赖于肾组织活检。近期研究发现约 70% IMN 患者血清中能检测到抗 PLA2R 自身抗体, 其可能成为 IMN 的血清学诊断指标^[1]。进一步分析发现该抗体属 IgG4 型, 与 PLA2R 抗原共同定位于肾小球毛细血管襻和基底膜周围, 而且其滴度与患者尿蛋白的消长有相关性^[4]。本研究 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体阳性率为 78.35%, 其含量与 IMN 患者尿蛋白、胆固醇、红细胞沉降率、肌酐呈正相关, 与血清清蛋白呈负相关, 此研究的结果与国内周广宇等^[6,7] 研究结果一致, 进一步证实了血清抗 PLA2R 抗体在 IMN 中具有较高的诊断敏感度及在 IMN 病情评估中的重要意义。关于 IMN 患者中存在血清抗 PLA2R 抗体阴性的原因, 以前的研究认为可能与以下几个因素有关: ①该疾病可能存在除了 PLA2R 以外的其他隐藏抗原^[8]; ②目前检测技术不够完善; 取材时部分患者的免疫活动已经减弱或消停, 患者病情稳定。针对第一种情况, 近期 Tomas 等^[9] 研究证实 IMN 患者血清中除抗 PLA2R 抗体之外还有针对 IMN 患者肾小球的其他循环抗体。该团队在 15 例抗 PLA2R 抗体阴性的 IMN 患者血清中发现了一种分子量为 250kD 的肾小球蛋白, 而 74 例抗 PLA2R 抗体阳性的 IMN 患者、76 例其它类型肾小球疾病以及 44 例健康对照的血清均不能识别这一抗原, 他们质谱分析确定该抗原为 1 型血小板反应蛋白 7A 域 (THSD7A), 并且证实 THSD7A 是参与成人 IMN 发病的第二个抗原。虽然 THSD7A 这一新识别的抗原与 PLA2R 明显不同, 但也具有一些与 PLA2R 相似的结构和生化特性, 如: 均表达于足细胞膜上, 含有一个由许多重复的二硫键所组成的大型胞内区域和 N-糖基化区域(但糖基化程度较 PLA2R 轻); 针对 THSD7A 和 PLA2R 的自身抗体均是 IgG4 亚型, 并且仅在非还原条件下与血清起反应识别它们的靶抗原。血清抗 THSD7A 抗体阳性的患者代表了明显不同的一个 IMN 患者亚组。这将有助于我们进一步了解 IMN 的发病机制, 并且我们可以通过检测抗 PLAR2 抗体阴性

IMN 患者血清中抗 THSD7A 抗体,使两者互补诊断 IMN 成为可能,但这需要大量的研究来证实。综上血清抗 PLA2R 抗体在 IMN 患者诊断及病情评估中均具有重要的价值,但血清无创性检查不能在不久的将来取代肾穿刺,这仍需我们医务工作者进一步地进行大样本、多中心的临床研究来定论。

参考文献:

- [1] Beck LH, Bonegi 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.
- [2] Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy [J]. N Engl J Med, 2011, 364(7):689-690.
- [3] Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2011, 6(6):1286-1291.
- [4] Qin W, Beck LH, Zeng C, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(6):1137-1143.
- [5] Hoxha E, Harendza S, Zahner G, et al. An immunofluorescence test for phospholipase A2 receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis [J]. Nephrol Dial

Transplant, 2011, 26(8):2526-2532.

- [6] 周广宇, 金玲, 于晶, 等. 成人膜性肾病患者血清抗 PLA2R 抗体与病情的相关性[J]. 中华肾脏病杂志, 2012, 28(2), 111-114.
Zhou GY, Jin L, Yu J, et al. Correlation of anti-M-type phospholipase A2 receptor antibody with disease severity in adult patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. Chin J Nephrol, 2012, 28(2), 111-114.
- [7] 曹鹏龙, 李士军, 邹婷婷, 等. 血清抗 M 型磷脂酶 A2 受体抗体与成人特发性膜性肾病的相关性[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(15), 2241-2244.
Cao PL, Li SJ, Hui TT, et al. Correlation of serum anti M A2 receptor antibody and adult idiopathic membranous nephropathy [J]. The Journal of Practical Medicine, 2014, 30(15), 2241-2244.
- [8] Debiec H, Lefeu F, Kemper MJ, et al. Early-childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin[J]. N Engl J Med, 2011, 364(22):2101-2110.
- [9] Tomas NM, Beck LH, Meyer-Schwesinger C, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy[J]. N Engl J Med, 2014, 371(24), 2277-2287.

收稿日期:2015-09-26

修回日期:2015-11-27

(上接 3 页)主要集中在结核分枝杆菌方面,尚没有对临床微生物样本进行持留菌的系统性筛选及临床流行病学调查。本研究首次对此进行了研究报道,为深入了解持留菌与慢性感染的关系、持留菌在临床中的分布特征提供了重要的信息,同时也为我院慢性感染的治疗和防控提供了合理的理论依据。但是,由于本研究为回顾性研究分析以及患者住院时间的限制,在样本筛选过程中难以避免漏检情况。

参考文献:

- [1] Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease[J]. Nat Rev Microbiol, 2007, 5(1):48-56.
- [2] Dobias Dörr, Kim Lewis, Marin Vulic. SOS response induces persistence to fluoroquinolones in *Escherichia coli*[J]. PLoS Genet, 2009, 5(12):e1000760.
- [3] Spoering AL, Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials [J]. J Bacteriol, 2001, 183(23):6746-6751.
- [4] LaFleur MD, Kumamoto CA, Lewis K, et al. *Candida albicans* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(11):3839-3846.

- [5] Mulcahy LR, Burns JL, Lory S, et al. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing high levels of persister cells in patients with cystic fibrosis [J]. J Bacteriol, 2010, 192(23):6191-6199.
- [6] Shah D, Zhang Z, Khodursky A, et al. Persisters: a distinct physiological state of *E. coli*[J]. BMC Microbiol, 2006(6):53.
- [7] Verstraeten N, Knapen W, Fauvart M, et al. A historical perspective on bacterial persistence[J]. Methods Mol Biol, 2016(1333):3-13.
- [8] Wolf SE, Phelan HA, Arnoldo BD. The year in burns 2013[J]. Burns, 2014, 40(8):1421-1432.
- [9] 耿波, 刘萍, 梅玉峰. 458 例烧伤患者创面培养菌群分布和耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(6):121-122.
Geng B, Liu P, Mei YF. Population distribution and drug resistance analysis of microbials cultivated from 458 patients with burn wound [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(6):121-122.
- [10] Meisel A, Smith CJ. Stroke: Preventive antibiotics for stroke-associated pneumonia [J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(12):672-673.

收稿日期:2016-01-12

修回日期:2016-02-24