

- tissues[J]. FASEB J, 2010, 24(8): 2804-2817.
- [12] Olson BM, Jankowska-Gan E, Becker JT, et al. Human prostate tumor antigen-specific CD8<sup>+</sup> regulatory T cells are inhibited by CTLA-4 or IL-35 blockade[J]. J Immunol, 2012, 189(12): 5590-5601.
- [13] Collison LW, Delgoffe GM, Guy CS, et al. The composition and signaling of the IL-35 receptor are unconventional[J]. Nat Immunol, 2012, 13(3): 290-299.
- [14] Niedbala W, Wei XQ, Cai B, et al. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells[J]. Eur J Immunol, 2007, 37(11): 3021-3029.
- [15] Kochetkova I, Golden S, Holderness K, et al. IL-35 stimulation of CD39<sup>+</sup> regulatory T cells confers protection against collagen II-induced arthritis via the production of IL-10[J]. J Immunol, 2010, 184(12): 7144-7153.
- [16] Tirotta E, Duncker P, Oak J, et al. Epstein-Barr virus-induced gene 3 negatively regulates neuroinflammation and T cell activation following coronavirus-induced encephalomyelitis[J]. J Neuroimmunol, 2013, 254(1/2): 110-116.
- [17] Huang CH, Loo EX, Kuo IC, et al. Airway inflammation and IgE production induced by dust mite allergen-specific memory/effectector Th2 cell line can be effectively attenuated by IL-35[J]. J Immunol, 2011, 187(1): 462-471.
- [18] Hu Y, Dong C, Yue Y, et al. In vivo delivery of interleukin-35 relieves coxsackievirus-B3-induced viral myocarditis by inhibiting Th17 cells[J]. Arch Virol, 2014, 159(9): 2411-2419.
- [19] 张传峰,苑海涛.病毒性心肌炎患者血清 IL17、IL35 水平变化及意义[J].山东医药,2014,40(31):28-30.
- [20] Niedobitek G, Pazolt D, Teichmann M, et al. Frequent expression of the Epstein-Barr virus (EBV)-induced gene, EBI3, an IL-12 p40-related cytokine, in Hodgkin and Reed-Sternberg cells[J]. J Pathol, 2002, 198(3): 310-316.
- [21] Nishino R, Takano A, Oshita H, et al. Identification of Epstein-Barr virus-induced gene 3 as a novel serum and tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(19): 6272-6286.
- [22] Wang Z, Liu JQ, Liu Z, et al. Tumor-derived IL-35 promotes tumor growth by enhancing myeloid cell accumulation and angiogenesis[J]. J Immunol, 2013, 190(5): 2415-2423.
- [23] Long J, Zhang X, Wen M, et al. IL-35 over-expression increases apoptosis sensitivity and suppresses cell growth in human cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 430(1): 364-369.
- [24] Zeng JC, Zhang Z, Li TY, et al. Assessing the role of IL-35 in colorectal cancer progression and prognosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(9): 1806-1816.
- [25] Jin P, Ren H, Sun W, et al. Circulating IL-35 in pancreatic ductal adenocarcinoma patients[J]. Hum Immunol, 2014, 75(1): 29-33.
- [26] Wu H, Li P, Shao N, et al. Aberrant expression of Treg-associated cytokine IL-35 along with IL-10 and TGF-beta in acute myeloid leukemia[J]. Oncol Lett, 2012, 3(5): 1119-1123.
- [27] Jafarzadeh A, Jamali M, Mahdavi R, et al. Circulating levels of interleukin-35 in patients with multiple sclerosis: evaluation of the influences of FOXP3 gene polymorphism and treatment program[J]. J Mol Neurosci, 2015, 55(4): 891-897.
- [28] Chen C, Deng Y, Chen H, et al. Decreased concentration of IL-35 in plasma of patients with asthma and COPD [J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2014, 32(3): 211-217.
- [29] 万俊,罗英,杨春平,等.变应性鼻炎患者外周血 IL-35 及 EBI3 mRNA 和 IL-12A mRNA 表达的研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2014,28(13):952-954.
- [30] 沈崇灵.法理学[M].北京:北京大学出版社,1994:51-52.
- [31] Yang Y, Xuan M, Zhang X, et al. Decreased IL-35 levels in patients with immune thrombocytopenia[J]. Hum Immunol, 2014, 75(8): 909-913.
- [32] Ozkan ZS, Simsek M, Ilhan F, et al. Plasma IL-17, IL-35, interferon-gamma, SOCS3 and TGF-beta levels in pregnant women with preeclampsia, and their relation with severity of disease[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2014, 27(15): 1513-1517.
- [33] Lin Y, Huang Y, Lu Z, et al. Decreased plasma IL-35 levels are related to the left ventricular ejection fraction in coronary artery diseases[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52490.

(收稿日期:2017-01-26 修回日期:2017-03-11)

## • 综述 •

## 基因组拷贝数变异与肺癌关系的研究进展

冯倩<sup>1</sup>综述,张艳亮<sup>2</sup>,段勇<sup>2△</sup>审校

(1. 云南省第二人民医院检验科,昆明 650021;2. 昆明医科大学第一附属医院检验科,昆明 650032)

关键词:肺癌; 拷贝数变异; 基因组

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)12-1641-04

肺癌是中国乃至全世界最常见的恶性肿瘤之一,截止

2013 年的调查显示其病死率在中国死亡病种中位列第 4

△ 通信作者,E-mail:duanyong7@139.com。

位<sup>[1]</sup>。越来越多的研究证实,基因组DNA拷贝数变异(CNVs)对于探究基因结构改变、基因表达以及肿瘤的发病机制有很大帮助。CNVs在包括肺癌在内的肿瘤的发生发展过程中扮演了重要的角色,因此研究DNA拷贝数改变对肺癌的影响已成为目前研究肺癌发病机制、探讨病因的热点之一,研究者期望用这些研究来提高对肺癌的干预措施的有效性,降低肺癌的发病率和病死率。下面本文对肺癌与基因拷贝数改变关系的研究进展作一综述。

## 1 CNVs

**1.1 CNVs概述** CNVs是指大小范围从kb至Mb的基因组大片段的拷贝数增加或者减少,主要表现为亚显微水平(在普通电子显微镜所能分辨的范围内)的缺失和重复,为个体间基因差异的重要来源之一<sup>[2]</sup>。CNVs包括的拷贝数的增减可能表现为简单的DNA结构变化,也可能表现为复杂的染色体变异。根据遗传和组成形式可将CNVs分为缺失、扩增、同一位点并发的缺失与扩增、复杂多位点变异等。又可依据CNVs在人类基因组中的发生频率分为常见型CNVs和罕见型CNVs。常见型CNVs指人群发生频率>1%的CNVs,此类型CNVs变化的拷贝数较多,DNA片段拷贝数在0~30不等,且片段长度较小<sup>[3]</sup>,在糖尿病、克罗恩病等疾病中被发现<sup>[4]</sup>。罕见型CNVs指人群发生频率较低(<1%)的CNVs,此类型多为较大片段的DNA拷贝数变化,多由突变产生,且在基因组中变化的拷贝数较少,受到遗传的选择压力大,与神经精神疾病如孤独症、精神分裂症等有关<sup>[5-7]</sup>。2004年,两个研究小组几乎同时发表论文,报告了在人类基因组中广泛存在着CNVs,揭示CNVs是一种重要的遗传变异,与种群多样性及多种疾病的发病有关<sup>[8]</sup>。

**1.2 CNVs致病机制** 在对肿瘤发生机制的分子生物学研究中发现,癌基因常潜藏在DNA扩增的区域之中,而抑癌基因可能存在于单等位或双等位基因缺失的区域中。在特异区域发生DNA拷贝数的扩增或缺失,这种染色体的不稳定现象与肿瘤的发生和发展有很大的相关性。基因拷贝数变异而致肿瘤发生的分子机制有以下几个方面:(1)低强度的CNVs表现出的扩增与缺失,在剂量累加效应的作用下改变基因的表达量,拷贝数扩增使特定基因所在区域或临近区域的基因表达量增加,拷贝数丢失则会使上述区域基因表达量减少,从而导致功能紊乱。Klijn等<sup>[9]</sup>的研究显示,在肿瘤发生发展过程中大规模的基因拷贝数微缺失或微扩增可能通过影响基因的表达而造成功能相关基因所形成的网络中的基因的数量改变。(2)在CNVs的改变中同一位点或多等位基因位点发生的缺失与扩增,如基因中敲除或插入部分序列,或通过破坏基因的调控区域,对基因的关键区域起作用来影响基因活性,调节基因表达转录后加工的能力,从而导致编码无功能或功能改变的蛋白,对肿瘤的生长、生理及疾病形成起重要作用<sup>[10]</sup>。(3)CNVs的改变在复杂的位置造成结构的改变,例如位置效应、基因印记、等位基因差异性表达等来影响基因的功能。

**1.3 CNVs检测技术** CNVs检测方法主要包括:芯片技术、ROMA技术、多重连接探针扩增技术(MLPA)和多重可扩增探针杂交技术(MAPH)、新一代的测序技术等。此外,实时荧光定量PCR技术(RT-qPCR)和荧光原位杂交技术(FISH)等则主要用于CNVs的验证。虽然CNVs的检测方法有很多,但每一种方法都有自己的优缺点,实际应用时需根据具体情况选择最合适的检测方法。

目前,最为常用的CNVs检测技术是基于基因芯片的全基因水平的分析。根据芯片平台及其所检测出的CNVs类型的不同,可分为两大类<sup>[11-12]</sup>:单核苷酸多态性微阵列(SNP array)和微阵列比较基因杂交(aCGH)芯片技术。aCGH检测的原理是在固体表面上集成已知序列的人类全基因组DNA基因探针,被测的实验与对照样品的片段化DNA经不同颜色荧光染料标记,与上述探针阵列进行竞争性杂交,通过检测相应位置杂交探针,比较两种荧光信号的颜色和相对强弱,判断各染色体的CNVs<sup>[13]</sup>。aCGH高分辨率检测CNVs是最先发展、也是目前仍然最为广泛应用的微阵列技术,此法是基于全基因组水平的,可以确定相关基因,提供较为精确的定位,其操作简单、处理方便、探针设计灵活、分辨率高,分辨水平可以到达对特定基因外显子缺失的检测,多应用于遗传学和肿瘤学的研究中,但这种技术只能检测CNVs,而不能检测亚微观结构变异。SNPs芯片是另一种常用的检测CNVs的技术,与aCGH相比二者不同之处是在于检测的方法上,SNPs芯片仅需将待测样本进行单杂交,不用同时使用待检与对照DNA样本与探针进行双杂交,它是通过检测比较不同样本信号的强度来确定每个位点的拷贝数目,即其在基因组不同区域的CNV检测分辨率是不同的<sup>[14]</sup>,检测中还带有SNP分型的信息,探针的长度和GC含量都被考虑在内,所以具有信息强的优势,但存在技术本身重复性差的缺陷。

近年来越来越多的实验室开始借助下一代DNA测序技术(NGS)检测CNVs。与基于芯片的方法相比,高通量测序技术能一次并行对几十万到几百万条DNA分子进行序列测定,具有高准确性、高速度、高灵敏度等优点,而且高通量测序技术所产生的数据可用于多个目的的研究,而基于芯片的数据通常只能用于特定的研究目的,但其相对昂贵也限制了应用<sup>[15]</sup>。

基于PCR的检测技术,操作简便,工作流程短,但受限于可用荧光通道数即荧光染料光谱重叠的限制,这种方法不能进行高通量CNVs检测,而且每次PCR只能分析一个或数个靶点,稳定性不高。

## 2 肺癌与CNVs

肺癌是一种伴随多种复杂基因改变的高度异质性肿瘤,其发生和发展是一个典型的多阶段多步骤的过程。肺癌发生恶性转变过程被认为是细胞通路中异常基因表达所致,包括了如细胞周期调控、细胞增殖、分化、凋亡、黏附以及其他在细胞、分子和基因水平的功能异常。在这过程中有细胞的染色体片段被破坏、扩增或转位到其他染色体。这些染色体结构的改变,有些是肿瘤发生过程中特有的,有些则是随机发生的。染色体的扩增和缺失会导致癌基因激活及抑癌基因的失活,肺癌中经常可以检测到CNVs,并且CNVs有助于肺癌进程的判断<sup>[16]</sup>。

**2.1 肺癌的发生发展与CNVs** 由上可知,基因结构异常在肿瘤的发生发展过程中起到关键作用。近年来,关于CNVs异常对肺癌影响的研究越来越深入。Liu等<sup>[17]</sup>运用全基因组测序检测114例样本,并结合患者的病程,发现基因TERT和PBX1P1的CNVs与肺腺癌的发展相关。另有研究发现了WWOX基因的CNVs在肺癌发病和预后中的意义,相对2拷贝者,0~1拷贝者患肺癌的风险增加了94%(OR=1.94,95%CI:1.61~2.35),所以WWOX基因的CNV-67048型的缺失增加了患肺癌的风险<sup>[18]</sup>。王俊峰等<sup>[19]</sup>通过aCGH技术对人类肺腺癌Anip973和AGZY83-a两个细胞系进行评估,绘制完整的CNVs图谱。结果显示,对从这两个细胞系获得的基因组DNA进行检测,并未得到可测得的任何遗传物质的获得或缺失,但是将两个细胞系的DNA分别与正常对照DNA进行联

目前,最为常用的CNVs检测技术是基于基因芯片的全基

合杂交,发现这两个细胞系具有相同的拷贝变异数的基因图谱,在发现的 9 个纯合子缺失片段中包含 5 个重要的肿瘤相关基因,细胞系中的这些纯合子缺失基因可能与肺癌的形成机制相关。有研究采用 aCGH 技术分析了相同患者在肺癌初期和发生脑转移以后 CNVs 的变化,证实 1p33-p34、1q22、5p13 和 14q11 位点 CNVs 的扩增,以及 3p、4q31,5q,11p15 和 Xp21-p22 位点 CNVs 的缺失,可能与二期肺癌的脑侵袭和转移相关<sup>[20]</sup>。

**2.2 肺癌的治疗与 CNVs** 在肺癌的治疗过程中,抗肿瘤药物的疗效易受 DNA 修复能力的影响,修复能力增强机体容易产生耐药性。有学者对 60 例非小细胞肺癌患者的研究发现,接受铂类为主方案化疗后,基因 ERCC1 的 CNVs 拷贝数扩增的患者化疗药物铂剂的用量需加倍,表明 CNVs 的扩增使得 DNA 的修复能力增强,可能与个体肿瘤易感性密切相关,同时机体对药物的耐受性增强<sup>[21]</sup>。相对应的基因拷贝数的减少,DNA 修复能力下降,也许有助于有抗肿瘤活性的铂-DNA 复合物功能持续存在,从而对预后产生好的影响。对另一种药物络氨酸激酶抑制剂治疗肺癌的研究采用新一代测序技术,检测发现 EGFR 基因 CNVs 改变在肺癌治疗中运用络氨酸激酶抑制剂敏感与不敏感的药物抵抗中起作用<sup>[22]</sup>。

**2.3 肺癌的预后与 CNVs** 在对肺癌的多中心、大样本的联合研究中,Liu 等<sup>[23]</sup>运用 qPCR、RT-PCR 及 Western blotting 等技术研究 MAPKAPK2 基因启动子区域 CNV(g. CNV-30450)的基因型,发现携带 g. CNV-30450 为 4 拷贝者比 2 拷贝、3 拷贝者患肺癌的风险增加了,而且在 1 137 例预后资料完整的肺癌患者中,发现 4 拷贝基因型患者的平均生存期者比其他基因型者缩短 5 个月(由 14 个月缩短至 9 个月),随访期内死亡风险上升 47% (HR=1.47, 95% CI: 1.22~1.78)。该结果提示,MAPKAPK2 基因 CNV(g. CNV-30450)可作为预测人群肺癌发病和预后的遗传标志物。Yin 等<sup>[24]</sup>对 516 例中国南方非小细胞肺癌患者的肿瘤组织进行染色体变异的基因组分析,结合 986 例非小细胞肺癌的癌症基因图谱,发现基因 MCL1 的 CNVs 扩增与患者的不良预后有关,MCL1 CNVs 可能是非小细胞肺癌的预后生物标志。Sriram 等<sup>[25]</sup>运用微阵列比较分析基因杂交技术检测 62 例肺鳞癌样本的 CNVs 数据以及基因表达,用 72 例患者标本进行 qPCR 验证,发现基因 SOCS6 的拷贝数的缺失及表达的减低与肺癌的复发密切相关。

### 3 小 结

近年来 CNVs 与肺癌关系研究取得了很大的进步,但仍然有一些局限性存在。首先,研究方法的限制。目前对 CNVs 常用的研究方法较多而没有统一的标准,而且每种研究方法都存在不足之处,很多结果无法复制,因此为确保实验结果的可靠性及可重复性,在检测 CNVs 时应该用另一种或多种方法进行验证;其次,研究人群的限制。虽然全基因组分析的迅猛发展使得 CNVs 的参考数据库得以建立,但受研究人群总数的限制及影响,难免会造成遗漏,所以数据库有待进一步完善,希望可以提供更全面的参考信息尤其是在人群中少见但对表型可能有重要作用的罕见型变异;第三,肺癌的发生发展是多基因位点、多步骤、多因素参与的结果,单从基因水平进行研究还不能够全面揭示肺癌产生的机制。随着分子生物学及生物信息学的发展,人们意识到肿瘤的发生涉及不同层次信息的改变及多个基因的复杂调控。所以,整合多个平台的信息,从多个基因或蛋白相互作用的方式进行研究试图解释肺癌发生及发展的

机制,以期更深入地发掘遗传因素在肺癌发病中的作用和机制是今后的发展方向。

### 参 考 文 献

- [1] Zhou M, Wang H, Zhu J, et al. Cause-specific mortality for 240 causes in China during 1990–2013: a systematic subnational analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. Lancet, 2016, 387(10015): 251-272.
- [2] Tang YC, Amon A. Genecopy-number alterations: a cost-benefit analysis[J]. Cell, 2013, 152(3): 394-405.
- [3] Sudmant PH, Kitzman JO, Antonacci F, et al. Diversity of human copy number variation and multicity genes[J]. Science, 2010, 33(6004): 641-646.
- [4] Craddock N, Hurles ME, Cardin N, et al. Genome-wide association study of CNVs in 16 000 cases of eight common diseases and 3000 shared controls [J]. Nature, 2010, 464(7289): 713-720.
- [5] Van Den Bossche MJ, Strazisar M, Cammaerts S, et al. Identification of rare copy number variants in high burden schizophrenia families [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2013, 162B(3): 273-282.
- [6] Itsara A, Wu H, Smith JD, et al. De novo rates and selection of large copy number variation [J]. Genome Res, 2010, 20(11): 1469-1481.
- [7] Zahnleiter D, Uebe S, Ekici AB, et al. Rare copy number variants are a common cause of short stature [J]. PloS Genetics, 2013, 9(3): e1003365.
- [8] Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome[J]. Nature, 2006, 444(7118): 444-454.
- [9] Klijn C, Bot J, Adams DJ, et al. Identification of networks of co-occurring tumor-related DNA copy number changes using a genome-wide scoring approach[J]. PloS Comput Bio, 2010, 6(1): e1000631.
- [10] McCarroll SA, Kuruvilla FG, Korn JM, et al. Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation [J]. Nat Genet, 2008, 40(10): 1166-1174.
- [11] Walker LC, Wiggins GA, Pearson JF. The role of constitutional copy number variants in breast cancer[J]. Microarrays (Basel), 2015, 4(3): 407-423.
- [12] Fonda Allen J, Stoll K, Bernhardt BA. Pre-and post-test genetic counseling for chromosomal and Mendelian disorders[J]. Semin Perinatol, 2016, 40(1): 44-55.
- [13] Brady PD, Vermeesch JR. Genomic microarrays: a technology review[J]. Prenat Diagn, 2012, 32(4): 336-343.
- [14] Mason Suares H, Kim W, Grimmett L, et al. Density matters: comparison of array platforms for detection of copy-number variation and copy neutral abnormalities[J]. Genet Med, 2013, 15(9): 706-712.
- [15] Hayes JL, Tzika A, Thygesen H, et al. Diagnosis of copy number variation by illumina next generation sequencing is comparable in performance to oligonucleotide array comparative genomic hybridization[J]. Genomics, 2013,

- 102(3):174-181.
- [16] Bowcock AM. Invited review DNA copy number changes as diagnostic tools for lung cancer[J]. Thorax, 2014, 69(5):495-496.
- [17] Liu L, Huang J, Wang K, et al. Identification of hallmarks of lung adenocarcinoma prognosis using whole genome sequencing[J]. Oncotarget, 2015, 6(35):38016-38028.
- [18] Yang L, Liu B, Huang B, Deng J, et al. A functional copy number variation in the WWOX gene is associated with lung cancer risk in Chinese[J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(9):1886-1894.
- [19] 王俊峰, 郎耀国, 杨英男, 等. 微阵列技术对两种人类肺腺癌细胞系基因组变异的实验研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2013, 47(1):10-13.
- [20] Li F, Sun L, Zhang S. Acquirement of DNA copy number variations in non-small cell lung cancer metastasis to the brain[J]. Oncol Rep, 2015, 34(4):1701-1707.
- [21] Vanhecke E, Valent A, Tang X, et al. 19q13-ERCC1 gene copy number increase in non-small-cell lung cancer[J]. Clin Lung Cancer, 2013, 14(5):549-557.
- [22] Jia P, Jin H, Meador CB, et al. Next-generation sequencing of paired tyrosine kinase inhibitor-sensitive and -resistant EGFR mutant lung cancer cell lines identifies spectrum of DNA changes associated with drug resistance [J]. Genome Res, 2013, 23(9):1434-1445.
- [23] Liu B, Yang L, Huang B, Cheng M, et al. A functional copy-number variation in MAPKAPK2 predicts risk and prognosis of lung cancer[J]. Am J Hum Genet, 2012, 91(2):384-390.
- [24] Yin J, Li Y, Zhao H, et al. Copy-number variation of MCL1 predicts overall survival of non-small-cell lung cancer in a Southern Chinese population[J]. Cancer Med, 2016, 5(9):2171-2179.
- [25] Sriram KB, Larsen JE, Savarimuthu Francis SM, et al. Array-comparative genomic hybridization reveals loss of SOCS6 is associated with poor prognosis in primary lung squamous cell carcinoma [J]. PLoS One, 2012, 7(2):e30398.

(收稿日期:2017-02-12 修回日期:2017-04-18)

## • 综 述 •

## 血清 M 型磷脂酶 A2 受体抗体检测在特发性膜性肾病诊治中的应用研究进展

杨 雪 综述, 胡志刚<sup>△</sup> 审校

(南京医科大学附属无锡人民医院检验科 214023)

关键词: 膜性肾炎; 特发性膜性肾炎; M 型磷脂酶 A2 受体; 抗磷脂酶 A2 受体抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.022

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2017)12-1644-04

特发性膜性肾病(IMN)是以肾小球基底膜(GBM)上皮细胞下弥漫性沉积大量免疫复合物且基底膜弥漫性增生为特点的肾脏疾病,通常无肾小球固有细胞的增殖<sup>[1]</sup>。IMN 是导致成人肾病综合征(NS)的最常见的病因之一,约占 30%~40%,也是原发性肾小球疾病中最为常见的疾病<sup>[2]</sup>。相关随访研究显示,表现为肾病综合征的 IMN 患者 5~20 年后有 30%~50% 最终将发展为终末期肾病(ESRD)<sup>[3]</sup>。根据膜性肾炎(MN)的病因明确与否可将其分为两大类:特发性膜性肾病(IMN)和继发性膜性肾病(SMN)。目前诊断肾脏疾病的金标准为肾脏的组织活检病理诊断,但组织活检是一种创伤性检查,可能会引起一系列并发症,而部分因年龄较大、身体状况较差或穿刺部位感染等的 IMN 患者将产生穿刺禁忌,从而使临床应用受限。

2009 年, Beck 等<sup>[4]</sup> 使用蛋白免疫印迹实验(WB)研究方法,把 IMN 患者的血清和正常人群的肾小球组织提取物进行处理分析后,发现一条相对分子质量约  $(180\sim195)\times10^3$  的条带,并通过液相色谱法进行检测分析,最终证实该蛋白条带所对应的抗原是 M 型磷脂酶 A2 受体(PLA2R),并通过研究得出相关结论:M 型 PLA2R 位于肾小球的足细胞膜上,且与 IgG4 共同定位在 IMN 患者肾小球沉积的免疫复合物中。这一发现在 IMN 的相关研究中取得了突破性进展。

### 1 抗 PLA2R 抗体的结构及特性

PLA2R 是磷脂酶 A2 的受体之一,属于 I 型跨细胞膜受体,主要分为神经型(N 型)和肌肉型(M 型)两个亚型,已确认 M 型 PLA2R 受体为 IMN 自身抗体的主要靶抗原<sup>[2]</sup>。PLA2 可分为三大类:胞浆型(cPLA2)、分泌型(sPLA2)和非钙依赖型(iPLA2),各型的 PLA2 具有不同的分布及功能,但其共有的基本功能均为能够作用于 sn-2 位点,水解与三酰甘油耦联的脂肪酸酯,生成游离脂肪酸与可溶性磷脂,被 COX 酶进一步氧化产生炎症介质,参与机体内的炎性反应。

血清抗 PLA2R 抗体在不同的患者体内所呈现出的类型也不同,IMN 患者的主要抗体类型为 IgG4,在 SMN 中的主要类型则为 IgG1 和 IgG2<sup>[5]</sup>。当出现补体 C1q 时,可能提示患者为 SMN,尤其与系统性红斑狼疮性肾炎相关<sup>[6]</sup>。在 IgG 的亚型分类中,因 IgG4 不能结合激活补体蛋白 C1q,故无法在经典途径中激活补体系统,相关研究推测可能由 Th2 细胞辅助 B 细胞分化抗体分泌细胞,从而参与机体的体液免疫应答。另有相关研究猜测血清抗 PLA2R 抗体通过结合肾小球足细胞膜表面的 PLA2R 抗原,形成抗原抗体复合物以激活补体系统,形成的膜攻击复合物(MAC)进而损伤肾小球足细胞,破坏肾小球的滤过屏障,从而导致蛋白尿的产生。这一机制的发生可能是所形成的抗原抗体复合物中同时并存亚型 IgG1,激活物