

论著·临床研究

M 型磷脂酶 A2 受体抗体阳性与阴性的原发性膜性肾病患者的临床与病理特点比较

林 鑫¹, 刘 晶², 郑丹侠³, 王 悦³, 王 松^{3△}

(1. 北京大学医学部, 北京 100191; 2. 北京大学第三医院检验科, 北京 100191;

3. 北京大学第三医院肾内科, 北京 100191)

摘要:目的 比较 M 型磷脂酶 A2 受体抗体阳性与阴性的原发性膜性肾病患者的临床与病理特点。方法 选取 2015 年 5 月至 2017 年 10 月北京大学第三医院肾内科 147 例原发性膜性肾病患者, 根据血清抗 PLA2R 抗体检测结果分为 PLA2R 抗体阳性组和抗体阴性组。回顾分析临床及病理资料。结果 抗体阳性组尿蛋白检测为 $(7.55 \pm 6.10) \text{ g/24 h}$, 抗体阴性组为 $(5.10 \pm 4.10) \text{ g/24 h}$, 抗体阳性组血清清蛋白为 $(27.71 \pm 5.93) \text{ g/L}$, 抗体阴性组为 $(33.07 \pm 7.03) \text{ g/L}$, 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。抗体阳性组估算的肾小球滤过率为 $(107.35 \pm 33.47) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$, 抗体阴性组为 $(107.21 \pm 36.64) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$, 两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在临床诊断方面, 抗体阳性组肾病综合征的比例为 80.00%, 抗体阴性组肾病综合征比例为 54.39%, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在肾脏病理方面, 肾脏组织中 IgG、IgM、IgA、IgG 1~4 及 C1q 的沉积在抗体阳性组和抗体阴性组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但两组 C3 沉积的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在治疗上, 抗体阳性组中使用免疫抑制治疗的比例为 82.22%, 抗体阴性组的比例为 57.89%, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在转归方面, 抗体阳性组缓解率(包括完全缓解和部分缓解)为 60.00%, 抗体阴性组的缓解率为 63.20%, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 在原发性膜性肾病中, 相较于 M 型磷脂酶 A2 受体抗体阴性者, 抗体阳性者临床上肾病综合征的表现更突出, 肾组织中 C3 沉积较多, 需要使用免疫抑制治疗的可能性更大。

关键词:原发性膜性肾病; M 型磷脂酶 A2 受体抗体; 肾病综合征

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.14.005

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2018)14-1679-04

文献标识码:A

The differences in clinical and pathological features between patients positive and negative for M-type phospholipase A2 receptor antibody in idiopathic membranous nephropathy

LIN Chu¹, LIU Jing², ZHENG Danxia³, WANG Yue³, WANG Song^{3△}

(1. Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China; 3. Department of Nephrology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China)

Abstract: **Objective** To compare the clinical and pathological features of patients who were positive and negative for M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody in idiopathic membranous nephropathy. **Methods** The clinical and pathological data of 147 cases of membranous nephropathy who were performed with renal biopsy in Peking University Third Hospital from May 2015 to October 2017 were retrospectively analyzed. **Results** There were no statistical significance in age and sex between the antibody-positive group and the antibody-negative group. The proteinuria levels were $(7.55 \pm 6.10) \text{ g/24 h}$ and $(5.10 \pm 4.10) \text{ g/24 h}$ respectively in PLA2R positive and negative group. Serum albumin levels were $(27.71 \pm 5.93) \text{ g/L}$ and $(33.07 \pm 7.03) \text{ g/L}$ respectively. There was a statistically significant difference between the two groups ($P < 0.05$). The estimated GFR were $(107.35 \pm 33.47) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$ and $(107.21 \pm 36.64) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$ respectively. There was no significant difference between the two groups. In terms of clinical diagnosis, the ratio of nephrotic syndrome in PLA2R antibody positive group and negative group was 80.00% and 54.39% respectively. The difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). In the kidney pathology, IgG, IgM, IgA, IgG 1-4 and C1q deposition in kidney tissue were similar in both groups. But the difference of C3 deposition between the two groups were statistically significant ($P < 0.05$). The usage

作者简介:林鑫,男,研究生,主要从事膜性肾病方向研究。△ **通信作者,** E-mail: songwang30@163.com。

本文引用格式:林鑫,刘晶,郑丹侠,等. M 型磷脂酶 A2 受体抗体阳性与阴性的原发性膜性肾病患者的临床与病理特点比较[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(14): 1679-1682.

rate of immunosuppressive therapy in the PLA2R antibody positive group and antibody-negative group were 82.22% and 57.89% respectively. There was a statistical difference between the two groups ($P<0.05$). The remission rates (including complete remission and partial remission) were similar in both groups, which was 60.00% and 63.20% respectively. **Conclusion** Compared with PLA2R antibody-negative patients, the PLA2R antibody-positive idiopathic membranous nephropathy patients usually have more severe clinical manifestations. There is a high incidence of C3 deposition in the kidney tissue. And the need to use immunosuppressive therapy is more greater.

Key words: idiopathic membranous nephropathy; M-type phospholipase A2 receptor antibody

原发性膜性肾病是导致成人肾病综合征最常见的病理类型之一。2009 年 BECK 等^[1]发现,在原发性膜性肾病患者的血清样本中约 70%能在非还原条件下与一种相对分子质量为 185×10^3 的蛋白质发生抗原抗体反应,质谱分析证明,这种蛋白质就是 M 型磷脂酶 A2 受体(PLA2R)。当抗 PLA2R 抗体与足细胞表面的 PLA2R 结合后会在肾脏组织内形成上皮免疫复合物沉积,进而激活补体造成免疫损伤^[2]。PLA2R 的发现促进了大家对原发性膜性肾病发病机制的认识,血清抗 PLA2R 抗体的检测也在膜性肾病的诊断、病情评估和判断预后等方面具有重要价值^[3]。尽管如此,临床上仍有大约 30%的原发性膜性肾病患者致病的靶抗原不明,血清抗 PLA2R 抗体阴性。本研究收集了 2015 年 5 月至 2017 年 10 月在北京大学第三医院肾内科经临床及病理诊断为原发性膜性肾病的患者资料,并对原发性膜性肾病的患者血清 PLA2R 自身抗体进行检测,比较抗体阳性与阴性两组患者在临床和病理特点上的差异,以加深对 PLA2R 与原发性膜性肾病关系的理解,更好地指导临床工作。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 5 月至 2017 年 10 月就诊于北京大学第三医院肾内科并行肾穿刺活检术确诊为原发性膜性肾病的患者 147 例。纳入标准:肾活检诊断膜性肾病,具备血清抗 PLA2R 抗体检测结果,其他临床与实验室检查资料完整。排除标准:各种继发性膜性肾病,如乙肝病毒相关性肾病、V 型狼疮性肾炎、肿瘤相关性肾病等。根据血清抗 PLA2R 抗体检测结果分为两组,PLA2R 抗体阳性组($n=90$)中平均年龄(50.81 ± 15.25)岁,抗体阴性组($n=57$)平均年龄(46.76 ± 15.80)岁,两组差异无统计学意义($P>0.05$)。抗体阳性组中男女各占 57.78%和 42.22%,抗体阴性组中男女各占 47.37%和 52.63%,两组差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 研究方法 回顾性研究,收集患者的病史,记录患者年龄、性别、病程、临床表现、临床诊断,记录患者的肾活检结果及实验室检查结果,包括血常规、24 h 尿蛋白定量、血清清蛋白、肌酐和血清抗 PLA2R 抗体滴度等,估测的肾小球滤过率(eGFR)以 CKD-EPI 公式计算。收集肾活检组织病理资料,包括光镜、电镜及免疫荧光检查。记录患者的治疗方案及转归。

1.3 诊断标准 肾病综合征:大量蛋白尿,尿蛋白定量 $\geq 3.5\text{ g/24 h}$,同时伴低清蛋白血症,血清清蛋白 $<30\text{ g/L}$ 。可以伴有高脂血症和(或)水肿。

1.4 检测方法 (1)血清抗 PLA2R 抗体定量检测:使用酶联免疫吸附剂测定法(ELISA)试剂盒(德国 Euroimmun 公司试剂盒)对所有血清样本进行操作。抗 PLA2R 抗体滴度 $<14\text{ RU/mL}$ 为阴性, $14\sim20\text{ RU/mL}$ 为可疑, $>20\text{ RU/mL}$ 为阳性。(2)肾活检组织病理学检查:光镜下进行了 HE、PAS、PASM(六胺银)及 Masson 等染色。冷冻切片直接免疫荧光观察 IgG、IgG 亚型 1~4、IgA、IgM、C3、C1q 和纤维蛋白原的沉积部位和沉积量。小鼠抗人单克隆抗体 IgG1(4E3)、IgG2(HP-6014)、IgG3(HP-6050)、IgG4(HP-6025)均购自 Southern Biotech 公司,为异硫氰酸、罗丹明标记的抗体。常规透射电镜观察超微结构。(3)半定量法免疫荧光检测结果判定:根据免疫荧光检查的阅片标准,荧光由阴性到最强,分别记为“0~+”(低倍镜下似乎可见,高倍镜下可见);“++”(低倍镜下可见,高倍镜下清晰可见);“+++”(低倍镜下清晰可见,高倍镜下耀眼);“++++”(低倍镜下耀眼,高倍镜下刺眼)。规定“++”及以上为阳性沉积。

1.5 统计学处理 数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布数据采用中位数和四分位数表示,计数资料以频数或百分比表示。正态计量资料的组间比较用独立样本 t 检验,非正态分布数据用非参数秩和检验,计数资料用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验室检查指标的比较 抗体阳性组 24 h 尿蛋白定量高于抗体阴性组,血浆清蛋白低于抗体阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组估算的 eGFR 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者实验室检查指标比较($\bar{x}\pm s$)			
指标	抗体阳性	抗体阴性	P
尿蛋白(g/24 h)	7.55±6.10	5.10±4.10	0.008
血清清蛋白(g/L)	27.71±5.93	33.07±7.03	<0.001
eGFR[mL·min ⁻¹ ·1.73 m ⁻²]	107.35±33.47	107.21±36.64	0.955

2.2 肾脏病理的比较 将肾脏免疫荧光染色的结果由阴性到“++++”分别记为 0~4 进行半定量分析,肾脏组织中 IgG、IgM、IgA、IgG 1~4 及 C1q 的沉

积在抗体阳性组和阴性组间差异无统计学意义($P>0.05$),但抗体阳性组 C3 沉积多于抗体阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 肾脏病理特点的比较($\bar{x}\pm s$)

指标	抗体阳性	抗体阴性	P
IgG	3.16±0.95	2.89±0.98	0.110
IgM	0.24±0.52	0.44±0.66	0.052
IgA	0.27±0.64	0.26±0.70	0.954
IgG1	1.58±1.17	1.63±1.04	0.778
IgG2	0.19±0.45	0.16±0.47	0.772
IgG3	0.23±0.55	0.13±0.53	0.315
IgG4	2.29±1.45	1.84±1.33	0.080
C3	1.62±1.06	0.74±0.92	<0.001
C1q	0.46±0.77	0.28±0.62	0.122

2.3 临床诊断、治疗及转归的比较 从临床诊断的角度来看,抗体阳性组肾病综合征的比例为 80.00%,慢性肾小球肾炎比例为 20.00%,抗体阴性组肾病综合征比例为 54.39%,慢性肾小球肾炎的比例为 45.61%,抗体阳性组肾病综合征比例显著高于抗体阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$);从治疗角度来看,抗体阳性组中使用免疫抑制剂治疗的比例为 82.22%,抗体阴性组中使用免疫抑制剂治疗的比例为 57.89%,抗体阳性组使用免疫抑制剂治疗的比例高于抗体阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$);从疾病的转归的角度来看,抗体阳性组缓解率(包括完全缓解和部分缓解)(60.00%)与抗体阴性组(63.20%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

PLA2R 是存在于人肾小球足细胞膜上的一种跨膜糖蛋白,PLA2R 抗体的发现给原发性膜性肾病发病机制的解释以及临床诊疗工作带来了新的灵感与启发。如今检测血液中抗 PLA2R 抗体已经成为临床诊断原发性膜性肾病的一项重要检查,既往研究报道血清抗 PLA2R 抗体诊断原发性膜性肾病的敏感性为 52.0%~96.2%^[4-6],特异性可高达 96.6%^[7]。临床确诊的原发性膜性肾病中有大约 30%血清抗 PLA2R 抗体阴性,对于这部分患者可能的解释是:(1)参与原发性膜性肾病发病的靶抗原可能不止一种,目前已知的还有血清抗 1 型血小板反应蛋白 7A 域(THSD7A)抗体、中性内肽酶(NEP)等^[8-11]; (2)现阶段检测技术尚不完善,对于 PLA2R 分子一些隐藏的位点或空间构象不能很好地识别;(3)继发性膜性肾病病因不明,被误诊为原发性;(4)在获得患者血清样本时,疾病可能处在非活动期和缓解期。对于这些抗 PLA2R 抗体阴性的膜性肾病患者,其临床与病理表现上与抗 PLA2R 抗体阳性的患者是否存在差异,既往相关的研究比较少。本研究发现抗 PLA2R 抗体阳性组患者的尿蛋白定量显著高于抗体阴性组,而血浆清蛋白低

于抗体阴性组,这与既往的报道是一致的^[12-13]。近年来研究发现,血清中抗 PLA2R 抗体的滴度与原发性膜性肾病的疾病活动度有着很强的相关性,出现肾病水平蛋白尿的患者血清中抗 PLA2R 抗体往往也呈现高水平,在自发缓解或药物治疗缓解后抗 PLA2R 抗体的水平会显著下降甚至抗体转阴,在疾病复发时抗体水平再度升高^[13]。抗 PLA2R 抗体的水平与膜性肾病患者的尿蛋白定量之间存在正相关关系,这可能与高滴度的抗 PLA2R 抗体形成更多的上皮免疫复合物沉积,从而造成更严重的足细胞损伤有关^[14]。

从肾脏病理角度上看,本研究发现抗体阳性与阴性两组肾组织内 IgG、IgA、IgM、IgG 1~4 和 C1q 沉积上差异无统计学意义,这与目前原发性膜性肾病的病理特点也是一致的。原发性膜性肾病肾小球足细胞下沉积的免疫符合物以 IgG4 为主,而 IgG4 不具有与 C1q 结合的活性,而且还能降低 IgG1 与 C1q 的结合率,因此在肾活检中多数原发性膜性肾病的患者肾小球基底膜上皮 C1q 沉积为阴性^[15-16]。本研究发现,抗体阳性组肾组织的 C3 沉积要明显多于抗体阴性组,具体的机制尚不清楚,可能与肾小球足细胞部位的补体激活途径有关。补体激活途径包括经典途径、替代途径和甘露糖结合凝集素途径,由于 C1q 形成免疫复合物是经典途径的始动环节,因此经典途径并非原发性膜性肾病的主要补体激活途径。原发性膜性肾病主要以替代途径激活补体,抗肾小管刷状缘成分的抗体能够使 C3b 更多地沉积在肾小球上皮,导致 C3 转化酶的升高和自我活化,还能拮抗补体调节蛋白的作用,延长 C3 转化酶的半衰期,实现替代途径的持续激活^[17]。高活性的 C3 转化酶可能会吸引更多 C3 至肾脏组织发生反应,从而出现 C3 在肾脏组织的沉积,推测抗体阳性患者的补体激活反应可能更为强烈和持久,C3 的沉积也会相应地多于抗体阴性的患者。

本研究中抗体阳性组出现肾病综合征的比例显著高于抗体阴性组,这与抗体阳性组尿蛋白高,血浆清蛋白低的结果是相符的。抗体阳性组的患者在疾病治疗过程中使用免疫抑制剂的比例也高于抗体阴性组,这与抗体阳性组患者临床症状重于抗体阴性组是一致的。抗体阳性组患者与抗体阴性组患者在缓解率上(包括部分缓解与完全缓解)没有显著差异,这可能是因为抗体阳性组患者临床症状更重,采用了更为积极的免疫抑制剂治疗,从而缩小了两组之间的差异。

综上所述,相较于抗 PLA2R 抗体阴性患者,抗体阳性患者尿蛋白更高,血浆清蛋白更低,更容易表现为肾病综合征,在治疗过程中需要使用免疫抑制剂的可能性也更大。但本研究样本量有限,仍需大型临床研究挖掘抗 PLA2R 抗体的临床价值,原发性膜性肾病的补体沉积与免疫损伤机制也有待进一步阐明。

4 结论

本研究证明了抗 PLA2R 抗体在诊断原发性膜性

肾病、评估疾病严重程度、调整治疗方案和预测疾病转归上的重要价值。抗 PLA2R 抗体阳性的原发性膜性肾病患者临床上肾病综合征的表现更突出,肾组织中 C3 沉积较多,需要使用免疫抑制治疗的可能性更大。

参考文献

[1] BECK L H, BONEGIO R G, 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] MCQUARRIE E P. Anti-phospholipase A2 receptor antibodies in primary membranous nephropathy-10 key points [J]. Nephrol Dial Transplant, 2018, 33(2): 212-213.

[3] 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.

[4] KANIGICHERLA D, GUMMADOVA J, MCKENZIE E A, et al. Anti-PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. Kidney Int, 2013, 83(5): 940-948.

[5] 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.

[6] 韩丹诺, 谌贻璞, 王艳艳, 等. 特发性膜性肾病中血清磷脂酶 A2 受体抗体的临床意义[J]. 中国实用内科杂志, 2015 (4): 351-354.

[7] 杨书光, 窦艳娜, 王春燕, 等. M 型磷脂酶 A2 受体相关检测在成人特发性膜性肾病诊断中的应用[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(5): 42-46.

[8] TOMAS N M, BECK L H, 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.

[9] DEBIEC HANNA, LEFEU F, KEMPER M J, et al. Early-childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin[J]. N Engl J Med, 2011, 364 (22): 2101-2110.

[10] PRUNOTTO M, CARNEVALI M L, CANDIANO G, et al. Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2[J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(3): 507-519.

[11] DEBIEC H, GUIGONIS V, MOUGENOT B, et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies [J]. N Engl J Med, 2002, 346 (26): 2053-2060.

[12] HOFSTRA J M, BECK L H, BECK D M, 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.

[13] RADICE A, TREZZI B, MAGGIORE U, et al. Clinical usefulness of autoantibodies to M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) for monitoring disease activity in idiopathic membranous nephropathy (IMN)[J]. Autoimmun Rev, 2016, 15(2): 146-154.

[14] DEBIEC H, RONCO P. Immunopathogenesis of membranous nephropathy: an update[J]. Semin Immunopathol, 2014, 36(4): 381-397.

[15] 马亚龙. 补体系统在特发性膜性肾病发病机制研究进展 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2016, 17(10): 930-932.

[16] 李珺, 刘刚, 赵明辉. 补体参与特发性膜性肾病发病机制的研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2010, 26(12): 934-938.

[17] 高尚, 解汝娟. 补体与特发性膜性肾病研究进展[J]. 医学综述, 2016, 22(9): 1676-1679.

(收稿日期: 2018-01-30 修回日期: 2018-04-06)

(上接第 1678 页)

the kidney disease; improving global outcomes 2012 clinical practice guideline [J]. Ann Intern Med, 2013, 158 (11): 825-830.

[8] LEVY G D, RASHID N, NIU FANG, et al. Effect of urate-lowering therapies on renal disease progression in patients with hyperuricemia[J]. J Rheumatol, 2014, 41(5): 955-962.

[9] HAASE M, BELLOMO R, DEVARAJAN P A, et al. Accuracy of neutrophil Gelatinase-Associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis[J]. Am J Kidney Dis, 2009, 54(6): 1012-1024.

[10] HAHN K, KANBAY M, LANASPA M A, et al. Serum uric acid and acute kidney injury: A mini review[J]. Journal of Advanced Research, 2017, 8(5): 529-536.

[11] JOHNSON RJ, NAKAGAWA T, JALAL D, et al. Uric acid and chronic kidney disease; which is chasing which? [J]. Nephrol Dial Transplant, 2013, 28(9): 2221-2228.

[12] RONCO C, LEGRAND M, GOLDSTEIN S L, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated lipocalin; ready for routine clinical use? An international perspective[J]. Blood Purif, 2014, 37(4): 271-285.

(收稿日期: 2018-01-06 修回日期: 2018-04-12)