

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.09.025

❖ 临床研究 ❖

# 血清抗磷脂酶 A2 受体抗体及肾组织磷脂酶 A2 受体在特发性膜性肾病中的表达及与临床病情的相关性

陈利佳, 王少清, 毛楠

(成都医学院临床医学院·第一附属医院, 四川 成都 610500)

**【摘要】目的:** 探讨血清抗磷脂酶 A2 受体 (PLA2R) 抗体及肾组织 PLA2R 在特发性膜性肾病 (IMN) 的表达及与临床指标的相关性。**方法:** 选取 139 例经肾穿刺活检证实的肾小球疾病患者为研究对象, 包括 IMN、继发性膜性肾病 (SMN) 及除膜性肾病 (MN) 以外的其他病理类型。检测血清抗 PLA2R 抗体及肾组织 PLA2R; Spearman 相关分析法分析 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体与临床指标的相关性; 比较 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体不同滴度组实验室指标的差异。**结果:** 35 例 IMN 患者中, 血清抗 PLA2R 抗体阳性 24 例, 占 68.57%; 肾组织 PLA2R 阳性 29 例, 占 82.86%; 两者均阳性 24 例, 约占 68.57%; 两者均阴性 6 例, 约占 17.14%; 血清抗 PLA2R 抗体阴性而肾组织 PLA2R 阳性 5 例, 约占 14.29%。SMN 及其余非 MN 患者两者均为阴性。相关性分析显示, 血清抗 PLA2R 抗体与血清白蛋白呈负相关 ( $P < 0.05$ )。低滴度组白蛋白为  $(24.22 \pm 6.27)$  g/L, 高滴度组白蛋白为  $(19.86 \pm 3.31)$  g/L, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。低滴度组总胆固醇中位数为 7.04 (5.65 ~ 9.05) mmol/L, 高滴度组总胆固醇中位数为 8.37 (7.17 ~ 9.87) mmol/L, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论:** IMN 中血清抗 PLA2R 抗体及肾组织 PLA2R 的表达中等一致; 血清抗 PLA2R 抗体对诊断 IMN 有较大参考意义; 血清抗 PLA2R 抗体与白蛋白有相关性, 且滴度的高低可一定程度上反映 IMN 的疾病活动度。

**【关键词】** 血清抗 PLA2R 抗体; 肾组织 PLA2R; 相关性; 特发性膜性肾病

**【中图分类号】** R692 **【文献标志码】** A

## Analysis on the expression of serum anti-phospholipase A2 receptor antibody and renal phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy and the correlation with clinical condition

CHEN Li-jia, WANG Shao-qing, MAO Nan

(The First Affiliated Hospital of School of Clinical Medical, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan, China)

**【Abstract】Objective:** To examine the expression of serum anti-phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody and the expression of renal PLA2R in idiopathic membranous nephropathy (IMN), analyze the correlation between serum anti-PLA2R antibody and clinical indicators. **Methods:** 139 patients with glomerular disease confirmed by renal biopsy were enrolled, including IMN, secondary membranous nephropathy (SMN) and other pathological types except MN. Serum anti-PLA2R antibody and renal PLA2R were detected. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between serum anti-PLA2R antibody and clinical indicators in patients with IMN. The differences in laboratory indicators between the low-titer and high-titer serum anti-PLA2R antibody groups were compared. **Results:** Among the 35 IMN patients, 24 (68.57%) were positive for anti-PLA2R antibody, 29 (82.86%) were positive for renal PLA2R, both of them were positive in 24 cases (68.57%), and both were negative in 6 cases (17.14%), 5 (14.29%) were negative serum anti-PLA2R antibody and positive renal PLA2R. In SMN and other non-MN patients, both were negative. Correlation analysis showed that serum anti-PLA2R antibody was negatively correlated with serum albumin ( $P < 0.05$ ). The albumin in the low titer group was  $(24.22 \pm 6.27)$  g/L, and the albumin in the high titer group was  $(19.86 \pm 3.31)$  g/L, there was statistical difference between the two groups ( $P < 0.05$ ). The median total cholesterol in the low titer group was 7.04 (5.65 ~ 9.05) mmol/L, the median total cholesterol in the high titer group was 8.37 (7.17 ~ 9.87) mmol/L, there was statistical difference between the two groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The expression of serum anti-PLA2R antibody and renal PLA2R in IMN is moderately consistent. The serum anti-PLA2R antibody has great reference significance for the diagnosis of IMN. Serum anti-PLA2R antibody is related to albumin, and the titer can reflect the disease activity of IMN to a certain extent.

**基金项目:** 四川省中医药管理局课题 (2020LC0072); 四川省成都市金牛区医学会肾脏内科专委会专项科研课题 (JNZD20-12)

**作者简介:** 陈利佳 (1988-), 女, 主治医师。E-mail: 183599995@qq.com

**通讯作者:** 毛楠。E-mail: maonanlyb@163.com

**[Key words]** Serum anti-PLA2R antibody; Renal PLA2R; Correlation; Idiopathic membranous nephropathy

特发性膜性肾病 (idiopathic membranous nephropathy, IMN) 是一类病因不明的疾病, 是全世界成人原发性肾病综合征的最常见原因, 占 20% ~ 37%, 在 60 岁以上的成人中高达约 40%<sup>[1-2]</sup>。若未经治疗, 仅约 1/3 的患者可自发缓解, 1/3 的患者发展为非进展性慢性肾脏病, 1/3 的患者在 10 年左右发展为终末期肾病<sup>[3]</sup>。继发性膜性肾病 (secondary membranous nephropathy, SMN) 常继发于肿瘤、自身免疫性疾病、感染、药物及毒物等。IMN 与 SMN 的治疗方法截然不同。因此, 探究用于鉴别 IMN 和 SMN 的血清标志物已成为近年研究的热点。Beck 等<sup>[4]</sup> 在成人 IMN 患者血液中检测到肾小球足细胞跨膜受体—磷脂酶 A2 受体 (PLA2R) 的自身抗体, 并发现其滴度与蛋白尿存在相关性, 提示 PLA2R 可能为 IMN 的致病抗原, 抗 PLA2R 抗体可能为 IMN 的致病性自身抗体。因此探讨血清抗 PLA2R 抗体是否可作为 IMN 患者尤其是无法行肾活检的患者诊断的血清特异性标志物有重大临床意义。本研究旨在探讨血清抗 PLA2R 抗体及肾组织 PLA2R 在 IMN 的表达及与临床指标的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 12 月至 2021 年 9 月成都医学院第一附属医院收治的 139 例经肾穿刺活检病理类型证实为成人 IMN、SMN 及其他类型肾小球疾病患者为研究对象, 均无肾毒性药物应用史、重金属接触史及肿瘤病史。本研究已获伦理委员会批准, 患者均自愿签署知情同意书。

### 1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 包括年龄、性别、原发病、估算肾小球滤过率 (eGFR)、血肌酐、血清白蛋白、甘油三酯、总胆固醇、24 h 尿蛋白定量及肾活检病理结果等。所有肾组织病理切片均行光镜、免疫荧光和电镜检查, 并对 IMN 进行病理分期。

1.2.2 肾组织 PLA2R 检测 将 PLA2R 抗体 (美国 Sigma 公司) 滴加到已固定的冰冻切片上, 37 °C 孵育 30 min, 中性缓冲剂冲洗玻片 3 次, 再滴加 Alexa Fluor 488 羊抗兔 IgG 抗体 (美国 Life Technology 公司), 37 °C 避光孵育 30 min, 中性缓冲剂冲洗玻片 3 次, 封片后在荧光显微镜 (日本 Olympus 公司) 下阅片拍照。

1.2.3 血清抗 PLA2R 抗体检测 用量子点荧光免疫法检测所有患者血抗 PLA2R 抗体, 按照试剂盒 (购自南京诺唯赞医疗科技有限公司) 说明书操作。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用多组间比较单因素方差分析、Kruskal-Wallis *H* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验, 两组比较采用 *t* 检验或秩和检验; 计数资料以 [*n*(%)] 表示, 采用  $\chi^2$  检验; 一致性采用 Cohen, *s* kappa 系数分析; 相关性采用 Spearman 相关性分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者一般情况比较

139 例患者中, IMN 35 例 [男性 21 例, 女性 14 例; 年龄 (58.46 ± 9.25) 岁; 病理分期: I 期 4 例, II 期 23 例, III 期 7 例, IV 期 1 例]; SMN 2 例 [男性 1 例 (乙肝病毒相关性膜性肾病), 女性 1 例 (V 型狼疮肾炎)]; 年龄 (35 ± 15.56) 岁; IgAN (IgA 肾病) 49 例 [男性 24 例, 女性 25 例; 年龄 (43.65 ± 16.31) 岁]; MCD (微小病变肾病) 17 例 [男性 10 例, 女性 7 例; 年龄 (45.88 ± 18.62) 岁]; DN (糖尿病肾病) 22 例 [男性 15 例, 女性 7 例; 年龄 (55.32 ± 9.77) 岁]; FSGS (局灶节段硬化性肾小球肾炎) 8 例 [均为男性, 年龄 (47.63 ± 18.97) 岁]; LN (狼疮肾炎) 7 例 [男性 1 例, 女性 6 例; 年龄 (43.29 ± 15.25) 岁]。各种肾小球疾病患者实验室指标中, 除甘油三酯外, 其余指标差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 各种肾小球疾病患者实验室指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	MN ( <i>n</i> = 37)	IgAN ( <i>n</i> = 49)	MCD ( <i>n</i> = 17)	DN ( <i>n</i> = 22)	FSGS ( <i>n</i> = 8)	LN ( <i>n</i> = 6)	<i>P</i> 值
24 h 尿蛋白定量 (g/L)	4.66 ± 3.18	2.60 ± 2.43	3.92 ± 2.62	5.24 ± 3.84	5.37 ± 2.21	4.47 ± 2.88	0.007
白蛋白 (g/L)	22.47 ± 5.85	34.10 ± 8.40	17.93 ± 4.38	28.46 ± 8.05	22.60 ± 12.18	27.43 ± 8.47	<0.001
肌酐 (μmol/L)	77.06 ± 30.63	140.61 ± 139.86	116.85 ± 82.40	165.91 ± 110.92	121.53 ± 56.41	88.62 ± 31.10	0.002
eGFR [mL · min <sup>-1</sup> · (1.73 <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> ]	88.83 ± 21.46	72.22 ± 37.19	81.08 ± 42.48	53.04 ± 33.66	66.05 ± 26.17	76.36 ± 41.06	0.004
总胆固醇 (mmol/L)	7.83 ± 2.20	5.11 ± 1.23	7.97 ± 2.51	5.93 ± 2.95	9.81 ± 4.78	5.93 ± 1.41	<0.001
甘油三酯 (mmol/L)	2.74 ± 1.36	2.26 ± 2.02	3.41 ± 1.46	3.35 ± 2.58	4.00 ± 1.62	2.61 ± 1.56	0.057

## 2.2 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体和肾组织 PLA2R 的表达情况比较

35 例 IMN 患者中,血清抗 PLA2R 抗体阳性 24 例,阴性 11 例,阳性率为 68.57%;肾组织 PLA2R 阳性 29 例,阴性 6 例,阳性率为 82.86%。SMN 及其余非 MN 患者中两者均为阴性。血清抗 PLA2R 抗体和肾组织 PLA2R 均阳性约 68.57%;两者均阴性约 17.14%;血清抗 PLA2R 抗体阴性而肾组织 PLA2R 阳性约 14.29%,一致性分析显示,Kappa 值为 0.559 (95% CI:0.26~0.86)。见表 2。

表 2 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体和肾组织 PLA2R 的表达情况 [n(%)]

血清抗 PLA2R 抗体	肾组织 PLA2R		合计
	阳性	阴性	
阳性	24 (68.57)	0	24 (68.57)
阴性	5 (14.29)	6 (17.14)	11 (31.43)
合计	29 (82.86)	6 (17.14)	35 (100)

## 2.3 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体与临床指标的相关性分析

相关性分析显示,血清抗 PLA2R 抗体与白蛋白的关联性有统计学差异 ( $P < 0.05$ );与肾小球滤过率、肌酐、甘油三酯、总胆固醇、24 h 尿蛋白定量及病理分期的关联性无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。见表 3 及图 1。

表 3 血清抗 PLA2R 抗体与临床指标的相关性

指标	r 值	P 值
白蛋白	-0.382	0.023
肾小球滤过率	-0.287	0.095
肌酐	0.268	0.120
甘油三酯	-0.043	0.807
总胆固醇	0.295	0.085
24 h 尿蛋白定量	0.122	0.486
病理分期	0.065	0.711

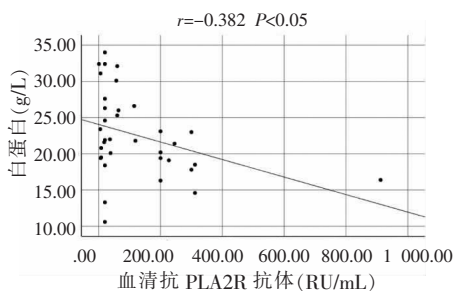


图 1 血清抗 PLA2R 抗体与白蛋白的相关性

## 2.4 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体不同滴度组实验室指标比较

根据参考文献<sup>[5-6]</sup>,将 35 例 IMN 患者分成低滴度组(血清抗 PLA2R 抗体  $\leq 100$  RU/mL,  $n = 22$ )

和高滴度组(血清抗 PLA2R 抗体  $> 100$  RU/mL,  $n = 13$ )。两组患者白蛋白、总胆固醇中位数相比,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );肾小球滤过率、肌酐、甘油三酯及 24 h 尿蛋白定量中位数相比,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

表 4 血清抗 PLA2R 抗体不同滴度组实验室指标比较

指标	( $\bar{x} \pm s$ )或 M(P <sub>25</sub> ,P <sub>75</sub> )	差值或差值中位数(95% CI)	t/Z 值	P 值
白蛋白(g/L)		4.36(1.06~7.66)	2.690	0.001
低滴度组( $n=22$ )	24.22 $\pm$ 6.27			
高滴度组( $n=13$ )	19.86 $\pm$ 3.31			
eGFR[mL·min <sup>-1</sup> (1.73 <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> ]		5.56(-10.09~20.37)	-0.717	0.473
低滴度组( $n=22$ )	96.40(79.49,104.06)			
高滴度组( $n=13$ )	87.53(65.38,106.10)			
肌酐( $\mu$ mol/L)		-6.85(-27.30~13.50)	-0.768	0.442
低滴度组( $n=22$ )	66.30(51.88,84.23)			
高滴度组( $n=13$ )	72.70(57.45,108.85)			
甘油三酯(mmol/L)		0.07(-0.7~1.05)	-0.205	0.838
低滴度组( $n=22$ )	2.46(1.50,3.89)			
高滴度组( $n=13$ )	2.07(1.66,3.30)			
总胆固醇(mmol/L)		-1.30(-2.76~-0.10)	-2.185	0.029
低滴度组( $n=22$ )	7.04(5.65,9.05)			
高滴度组( $n=13$ )	8.37(7.17,9.87)			
24 h 尿蛋白定量(g/d)		-0.01(-1.97~1.53)	-0.034	0.973
低滴度组( $n=22$ )	4.19(3.03,5.16)			
高滴度组( $n=13$ )	4.25(2.44,8.49)			

## 3 讨论

近年来逐渐认识到 IMN 是一种自身免疫性疾病<sup>[7]</sup>,其发病机制的关键是足细胞中 PLA2R 抗原表位暴露,与循环中抗 PLA2R 的自身抗体结合,形成原位免疫复合物,并激活补体,最终形成攻膜复合物,引起足细胞的损伤<sup>[8-9]</sup>。

本研究结果显示,在 SMN 及其他病理类型患者中,均未检测到血清抗 PLA2R 抗体及肾组织 PLA2R,而 IMN 患者的血清抗 PLA2R 抗体及肾组织 PLA2R 阳性比例(分别为 68.57% 和 82.86%)高于 SMN 患者和其他病理类型肾炎患者 ( $P < 0.05$ ),与既往研究<sup>[10-14]</sup>报道相近。为 PLA2R 作为 IMN 的特异性抗原、抗 PLA2R 抗体作为 IMN 的特异性自身抗体这一观点提供了有力佐证,同时提示血清抗 PLA2R 抗体可作为辅助生物标志物在鉴别 IMN 和 SMN 中发挥一定的参考作用,对于血清抗 PLA2R 抗体阴性的患者应注意排除潜在的继发性疾病。

本研究采用一致性评价方法分析了 IMN 患者

中血清抗 PLA2R 抗体和肾组织 PLA2R 抗原的共表达情况。参照文献<sup>[15]</sup>,根据 Kappa 系数分为五组来表示不同级别的一致性:  $\leq 0.20$  为极低的一致性,  $0.21 \sim 0.40$  为一般的一致性,  $0.41 \sim 0.60$  为中等的一致性,  $0.61 \sim 0.80$  为高度的一致性,  $0.81 \sim 1$  为几乎完全一致。本研究中 Kappa 系数为 0.559,提示二者的表达有中等一致性。研究显示,约 68.57% 患者 PLA2R 抗原与抗体共表达,两者的共表达间接证明了 IMN 的发病可能是通过循环抗 PLA2R 抗体与原位 PLA2R 结合形成免疫复合物,沉积在肾小球引起。本研究未检测到仅抗体阳性的患者,而既往有研究检测到血清抗 PLA2R 抗体阳性而肾组织 PLA2R 抗原阴性的比例约为 9.5%<sup>[16]</sup>,可能与肾活检的局限性有关。本研究中约 14.29% 的患者仅检测到 PLA2R 抗原,可能与自身抗体已被较快清除或已沉积于肾小球有关<sup>[17]</sup>,提示即使血清抗 PLA2R 抗体阴性的患者也需警惕不能除外 IMN。

本研究相关分析及不同滴度组实验室指标比较结果提示,血清抗 PLA2R 抗体与 IMN 患者临床病情是密切相关的。对于本研究结果中 IMN 患者血清抗 PLA2R 抗体与 24 h 尿蛋白定量无相关关系,原因可能有:(1)24 h 尿液标本留取以及保存的方法会导致一定的误差;(2)24 h 尿蛋白定量受多种生理病理因素的影响。相比之下,白蛋白较 24 h 尿蛋白定量更能真实反映患者的疾病程度。

综上,检测血清抗 PLA2R 抗体具有无创、方便、安全、极高的诊断特异性等优势,且其滴度与 IMN 患者临床病情密切相关,故临床上采用 PLA2R 抗体血清学检测来辅助诊断 IMN 具有极大的临床应用前景,对于不能或不愿意接受肾穿刺活检的老年肾病综合征患者尤其可以获益。

#### 参考文献

[1] Cattran DC, Brenchley PE. Membranous nephropathy: Integrating basic science into improved clinical management[J]. *Kidney Int*, 2017,91(3):566-574.  
[2] Ronco P, Debiec H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: Time for a shift in patient's care[J]. *Lancet*, 2015, 385(9981):1983-1992.

[3] Couser WG. Primary Membranous Nephropathy[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017, 12(6):983-997.  
[4] Beck LH, 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.  
[5] Hofstra JM, Debiec H, Short CD, et al. Antiphospholipase A2 receptor antibody titer and subclass in idiopathic membranous nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(10):1735-1743.  
[6] 黄俊,李剑文,梁鸣,等.血清抗磷脂酶 A2 受体抗体滴度预测特发性膜性肾病的临床结局[J]. *广东医学*, 2017, 38(9):1348-1353.  
[7] Ruggenti 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.  
[8] Beck LH, Salant DJ. Membranous nephropathy: from models to man [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6):2307-2314.  
[9] Glasscock RJ. Human idiopathic membranous nephropathy-amystery solved? [J]. *New Engl J Med*, 2009, 361(1):81-83.  
[10] 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.  
[11] Qin W, Beck LJ, Zeng C, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(6):1137-1143.  
[12] Dobronravov VA, Mayer DA, Berezhnaya OV, et al. Membranous nephropathy in a Russian population [J]. *Ter Arkh*, 2017, 89(6):21-29.  
[13] Hoxha E, Harendza S, Zahner G, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A(2)-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(8):2526-2532.  
[14] Hofstra JM, Beck LJ, Beck DM, et al. Anti-phospholipase A(2) receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(6):1286-1291.  
[15] 宋明慧,岳云龙,金延方,等.原发性甲状旁腺功能亢进的 MRI 诊断及多种影像学对比分析 [J]. *中国医刊*, 2018, 53(1):64-67.  
[16] Zhang QH, Huang B, Liu XB, 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.  
[17] Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(7):689-690.

(收稿日期:2021-10-11)

修回日期:2022-02-19)