

· 论 著 ·

# 肾小球 PLA2R 检测在膜性肾病诊断中的应用

许秀华, 许树根, 梁 萌, 华锦程

**[摘要]** **目的** 分析血清抗 M 型磷脂酶 A2 受体(PLA2R)抗体、肾小球 PLA2R 表达及 IgG 亚型沉积在膜性肾病中的作用, 探讨其在膜性肾病中的诊断价值。 **方法** 选取经肾活检术诊断的膜性肾病 79 例, 其中特发性膜性肾病(IMN)65 例, 继发性膜性肾病(SMN)14 例(其中 11 例 V 型狼疮肾炎, 2 例乙型肝炎病毒相关性膜性肾病, 1 例梅毒相关性膜性肾病)。血清抗 PLA2R 抗体应用欧蒙间接免疫荧光实验(IIFT)检测, 肾小球 PLA2R 表达及 IgG 亚型沉积采用免疫荧光法, 并比较特发性膜性肾病和继发性膜性肾病 2 组患者临床资料是否有差异。 **结果** 65 例 IMN 患者中, 肾小球 PLA2R 表达阳性者 57 例(87.7%); 血清抗 PLA2R 抗体阳性者 47 例(72.3%); IgG4 亚型沉积阳性者 59 例(90.8%)。14 例 SMN 患者肾小球 PLA2R 表达均阴性, 血清抗 PLA2R 抗体阳性者 2 例(14.3%), IgG4 亚型沉积阳性者 4 例(28.6%)。肾小球 PLA2R 表达阳性诊断 IMN 灵敏度为 87.7%, 特异度为 100%; 血清抗 PLA2R 抗体阳性诊断 IMN 灵敏度为 72.3%, 特异度为 85.7%。IMN 患者中肾小球 PLA2R 表达、血清抗 PLA2R 抗体、IgG4 亚型沉积阳性比例高于 SMN。2 组患者临床资料在性别构成比存在统计学差异, 年龄、白蛋白、血肌酐、总胆固醇、24 小时尿蛋白定量、肾小球滤过率 2 组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。 **结论** IMN 患者中肾小球 PLA2R 表达阳性率高, 在膜性肾病鉴别诊断中具有优势作用。

**[关键词]** 膜性肾病; 抗 M 型磷脂酶 A2 受体; 肾小球 PLA2R; IgG4 亚型

**[中图分类号]** R692 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2017)03-0254-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1672-271X.2017.03.008

## Application of glomerular PLA2R in the diagnosis of membranous nephropathy

XU Xiu-hua, XU Shu-gen, LIANG Meng, HUA Jin-cheng

(Department of Nephrology, the 174th Hospital of PLA, Xiamen 361001, Fujian, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze serum anti-M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibodies and glomerular deposition of PLA2R and IgG subclass in patients with membranous nephropathy (MN), explore its diagnostic value in membranous nephropathy. **Methods** 79 cases diagnosed by renal biopsy as membranous nephropathy were selected, 65 patients with idiopathic membranous nephropathy and 14 patients with secondary membranous nephropathy (11 cases V-type lupus nephritis, 2 cases of hepatitis B virus-associated membranous nephropathy (HBV-MN), 1 case of syphilis-related membranous nephropathy). Serum anti-PLA2R antibody was detected by indirect immunofluorescence assay (IIFT), glomerular PLA2R and IgG subclass by immunofluorescence, and clinical data difference of the two groups were compared. **Results** In 65 cases with IMN, 57 patients were glomerular PLA2R positive, and the positive ratio was 87.7%; 47 cases of serum anti PLA2R antibody were positive with the proportion of 72.3%; 59 cases of IgG4 subclass were positive with the positive ratio of 90.8%. 14 cases of glomerular PLA2R were negative. 2 case of serum antibody PLA2R were positive, and the positive ratio was 14.3%. 4 cases of IgG4 subclass were positive and the positive ratio was 28.6%. The sensitivity of glomerular PLA2R in diagnosing IMN was 87.7% and the specificity was 100%. The sensitivity of serum PLA2R in diagnosing IMN was 72.3% and the specificity was 85.7%. Positive ratio of glomerular PLA2R, serum PLA2R, IgG4 subclass in IMN patients was higher than in SMN. There was a statistically significant difference in sex composition between the two groups, Age, albumin, serum creatinine, total cholesterol, 24 hour proteinuria, and glomerular filtration rate were not significantly different.

**Conclusion** Glomerular PLA2R has a high expression in IMN patients, which has a dominant role in the differential diagnosis of membranous nephropathy.

**[Key words]** Membranous nephropathy; Anti PLA2R antibody; Glomerular PLA2R; IgG4 subtype

**作者单位:** 361001 厦门, 解放军第 174 医院肾内科  
**通信作者:** 许树根, E-mail: xushugen1973@sina.com  
**引用格式:** 许秀华, 许树根, 梁 萌, 等. 肾小球 PLA2R 检测在膜性肾病诊断中的应用[J]. 东南国防医药, 2017, 19(3): 254-257.

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)是成人肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)常见病因,特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)占我国原发性 NS 的 25%~30%<sup>[1]</sup>。Beck 等<sup>[2]</sup>发现 IMN 主要靶抗原是抗 M 型磷脂酶 A2 受体(serum anti-M-type phospholipase A2 receptor, PLA2R),对鉴别诊断膜性肾病起了重要作用。有研究示血清抗 PLA2R 抗体表达阳性率 52%~78%,同时显示在 MN 鉴别诊断中的不确定性,这种矛盾可能是由下列因素所致,如检测前免疫抑制剂的使用、血清抗 PLA2R 抗体检测明显滞后于肾小球 PLA2R 表达检测、存在其他未知膜性肾病相关抗原<sup>[2-6]</sup>。基于上述情况,本研究通过检测肾小球 PLA2R 表达、血清抗 PLA2R 抗体及 IgG4 亚型沉积相关性,评价其在膜性肾病诊断和鉴别诊断中的价值。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 解放军第 174 医院肾内科 2013 年 1 月至 2015 年 12 月肾活检证实为膜性肾病 79 例,其中特发性膜性肾病(IMN) 65 例和继发性膜性肾病(secondary membranous nephropathy, SMN) 14 例。IMN 组:男 40 例,女 25 例,年龄 12~77 岁,平均年龄(48.46±15.36)岁;SMN 组:男 3 例,女 11 例,年龄 23~72 岁,平均年龄(39.50±14.07)岁。2 组患者年龄比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),在性别构成上差异有统计学意义( $P<0.05$ ),SMN 组患者性别构成上以女性为主,男/女比例为 0.27,而 IMN 组比例为 1.60。SMN 包括 V 型狼疮肾炎 11 例、乙型肝炎病毒相关性膜性肾病(HBV-MN) 2 例、梅毒感染相关性膜性肾病 1 例。均无肾毒性药物应用史、未使用激素或免疫抑制剂;无肿瘤及重金属接触史;无心、脑、肝和造血系统等严重原发性疾病。

**1.2 诊断标准** IMN:病理诊断为膜性肾病,临床排除系统性红斑狼疮、乙型肝炎病毒感染、肿瘤、其他自身免疫性疾病和药物所致的膜性肾病。膜性狼疮肾炎:依据美国风湿病协会 1982 年修订的系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)分类标准<sup>[7-8]</sup>,或国际合作组 2012 年修订的分类标准<sup>[9]</sup>,病理类型参照文献<sup>[10]</sup>(国际肾脏病学会 ISN/RPS 2003 年 LN 分型 V 型,或 III 型合并 V 型,或 IV 型合并 V 型)。HBV-MN 诊断标准参照文献<sup>[11]</sup>:①血清乙型肝炎病毒抗原阳性;②病理诊断为不典型膜性肾病,肾组织切片可见 HBsAg 和(或)HBcAg 阳性。感染相关性 MN:①在肾脏病诊断之前、之中、

之后明确诊断梅毒感染;②病理诊断为膜性肾病或不典型膜性肾病。

## 1.3 方法

**1.3.1 实验室指标** 分别应用溴钾酚酯法检测患者血清白蛋白,苦味酸法检测血肌酐,酶法检测总胆固醇,考马斯亮蓝法检测 24 小时尿蛋白定量,肾小球滤过率估算依据 CKD-EPI 公式<sup>[12]</sup>。

**1.3.2 肾组织病理检查** 分析入选患者肾脏病理检查结果。肾活检组织均常规行光镜、免疫荧光、电镜病理检查。

**1.3.3 肾小球 PLA2R 表达及 IgG 亚型沉积** 采取免疫荧光检查,根据荧光信号强度,分别记录为(-)至(4+)。

**1.3.4 血清抗 PLA2R 抗体测定** 采用间接免疫荧光法测定。试剂盒购自德国欧蒙公司,荧光显微镜(Olympus BX60)下观察结果。

**1.4 诊断试验评价指标** 灵敏度:真阳性/(真阳性+假阴性);特异度:真阴性/(假阳性+真阴性);阳性预测值:真阳性/(真阳性+假阳性);阴性预测值:真阴性/(假阴性+真阴性);符合率:(真阳性+真阴性)/(真阳性+假阳性+假阴性+真阴性)。

**1.5 统计学分析** 用 SPSS19.0 分析数据。计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ ),计量资料中正态分布数据采用独立样本 *t* 检验。计数资料以百分率表示,百分率间采用卡方检验,多组均数间差异采用 F 检验。肾小球 PLA2R 表达或血清抗 PLA2R 抗体的免疫荧光强度为自变量,以是否诊断为 IMN 为结果变量绘制受试者工作(ROC)曲线。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 2 组患者实验室指标** 2 组患者血浆白蛋白、血肌酐、总胆固醇、尿蛋白定量、肾小球滤过率(eGFR)的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 膜性肾病患者临床实验室指标( $\bar{x}\pm s$ )

项目	IMN 组 (n=65)	SMN 组 (n=14)	t 值	P 值
白蛋白(g/L)	26.48±5.92	24.43±6.42	0.329	0.568
血肌酐(μmol/L)	78.28±19.42	78.54±17.90	0.000	0.992
总胆固醇(mmol/L)	8.48±3.14	7.96±2.28	2.483	0.119
尿蛋白定量(g/24h)	4.06±2.01	3.11±1.19	2.660	0.107
肾小球滤过率 [mL/(min·1.73m <sup>2</sup> )]	99.59±21.45	96.48±24.40	1.084	0.301

**2.2 肾小球 PLA2R 表达、IgG4 亚型沉积及血清抗 PLA2R 抗体检测结果**

①IMN 组肾小球 PLA2R 表达阳性率 87.7% (57/65), 8 例呈阴性; SMN 组均阴性。②IMN 组中肾小球 IgG 亚型沉积以 IgG4 沉积为主的阳性率 90.8% (59/65), 6 例阴性; 肾小球 IgG 亚型沉积以 IgG1 沉积为主的阳性率为 7.7% (5/65), 9 例阴性。SMN 组中 IgG4 沉积为主的阳性率 28.6% (4/14), IgG1 沉积为主的阳性率 71.4% (10/14)。③血清抗 PLA2R 抗体: IMN 组血清抗 PLA2R 抗体阳性率 72.3% (47/65), 18 例呈阴性; SMN 组阳性率 14.3% (2/14), 12 例阴性。

**2.3 肾小球 PLA2R 表达及 IgG4 亚型沉积与血清抗 PLA2R 抗体联合检测结果** IMN 组三者共阳性者占 72.3%, 共阴性者占 7.7%。SMN 组无三者共阳性者。

**2.4 肾小球 PLA2R 表达及 IgG4 亚型沉积与血清抗 PLA2R 抗体的诊断价值** 肾小球 PLA2R 表达阳性诊断 IMN 灵敏度为 87.7%, 特异度为 100%; 血清抗 PLA2R 抗体阳性诊断 IMN 灵敏度为 72.3%, 特异度为 85.7%; 肾小球 PLA2R 表达、血清抗 PLA2R 抗体及 IgG4 亚型沉积均阳性灵敏度为 72.3%, 特异度为 100%, 显示了单纯肾小球 PLA2R 表达阳性在膜性肾病鉴别诊断中的优势作用, 见表 2。肾小球 PLA2R 表达和血清抗 PLA2R 抗体诊断的曲线面积为 0.980 (95%CI 为 0.949~1.000)。见图 1。

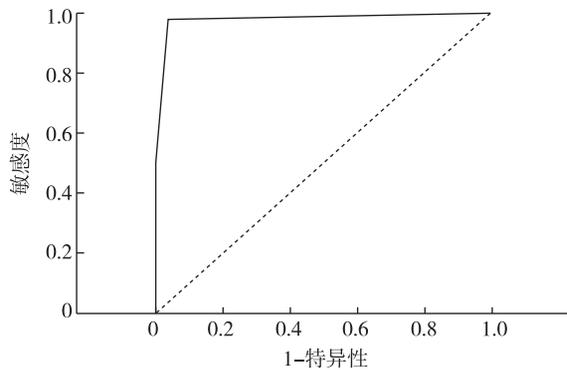


图 1 肾小球 PLA2R 表达和血清抗 PLA2R 抗体诊断的 ROC 曲线

**3 讨论**

研究发现, 特发性膜性肾病是一种免疫性疾病, 存在自身抗原, M 型 PLA2R 可能是成人特发性膜性肾病重要的靶抗原, 而继发性膜性肾病可能与外来抗原相关<sup>[2,13]</sup>。还有研究发现, 患者的病情、治疗情况对抗体阳性率有影响, 低蛋白血症、eGFR 受损程度越重、肾病范畴蛋白尿比例越高, 即病情越活动、检测前未使用免疫抑制剂治疗的抗体阳性率越高, 提示抗 PLA2R 抗体可反映特发性膜性肾病的活动性<sup>[14-15]</sup>。

有研究显示, 抗 PLA2R 抗体的特异性在 89% 以上, 但在狼疮性肾炎中几乎 100% 阴性<sup>[16-18]</sup>。我院采用免疫荧光法测定肾小球 PLA2R 表达情况, IMN 阳性率为 87.7%, SMN 未见阳性病例, 但有研究发现 SMN 存在肾小球 PLA2R 表达和 IgG4 亚型沉积均阳性现象, 不排除 MN 与另一种疾病并存现象<sup>[19]</sup>。因本结果样本量较少, 且 SMN 以系统性红斑狼疮为主, 其中膜性狼疮肾炎 (MLN) 11 例, SMN 共 14 例, 不排除继发因素病种集中于单一疾病所致结果偏差, 考虑这也是导致双组病例在性别构成比存在差异的原因。

本研究旨在评估肾小球 PLA2R 表达及 IgG4 亚型沉积与血清抗 PLA2R 抗体的检测在 MN 中的诊断价值, 结果显示了单纯肾小球 PLA2R 表达阳性在膜性肾病鉴别诊断中优于三者联合检测, 有部分研究与本结果存在矛盾<sup>[14]</sup>, 在接下来的临床工作中将继续收集病例进行相关分析。

IMN 组血清抗 PLA2R 抗体阳性率为 72.3%, 与文献报道基本一致 (52%~74%)<sup>[4,19-22]</sup>。SMN 组共 14 例, 血清抗 PLA2R 抗体阳性 2 例, 阳性率为 14.3%, 2012 年瑞典学者采用上述方法测定 25 例 MLN 血清样本, 血清抗 PLA2R 抗体均阴性。IMN 组肾小球 IgG4 亚型沉积阳性率为 90.8%, 在血清抗 PLA2R 抗体阳性的 IMN 组中, IgG4 亚型沉积阳性率为 100%。肾小球 PLA2R 表达阳性的 IMN 组中,

表 2 肾小球 PLA2R 表达及 IgG4 亚型沉积与血清抗 PLA2R 抗体诊断试验评价指标结果

项目	IMN		SMN		灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	符合率
	是	否	是	否					
肾 PLA2R+	57	8	0	14	0.877	1.000	1.000	0.636	0.899
血 PLA2R+	47	18	2	12	0.723	0.857	0.959	0.400	0.747
肾 IgG4+	59	6	4	10	0.908	0.714	0.937	0.625	0.873
肾 PLA2R+或抗 PLA2R+或肾 IgG4+	61	4	6	8	0.938	0.571	0.910	0.667	0.873
肾 PLA2R+和抗 PLA2R+和肾 IgG4+	47	18	0	14	0.723	1.000	1.000	0.436	0.772

血清抗 PLA2R 抗体阳性率为 82.5% (47/57), IgG4 亚型沉积阳性率为 96.5% (55/57), 血清抗 PLA2R 抗体和 IgG4 亚型沉积均阳性的所占的比率为 72.3% (47/65), 证实抗 PLA2R-IgG4 是其致病抗体。IMN 组中肾小球 IgG 亚型沉积以 IgG4 沉积为主的阳性率 90.8% (59/65), 而 SMN 组中 IgG1 沉积为主的阳性率 71.4% (10/14), 与国内相关研究结果相似<sup>[23]</sup>。在 8 例肾小球 PLA2R 表达阴性的 IMN 组中, 血清抗 PLA2R 抗体也均为阴性, 而肾小球 IgG4 亚型沉积阳性病例 4 例, 出现上述现象考虑与疾病自发缓解、存在未知的继发因素有关。

本结果显示肾小球 PLA2R 表达在鉴别 IMN 和 SMN 时, 灵敏度为 87.7%, 特异度为 100%, 灵敏度及特异度均高于血清抗 PLA2R 抗体, 尤其当需要排除继发因素影响时, 是一个很好的指标。

本研究虽同时检测血清抗 PLA2R 抗体、肾小球 PLA2R 表达和 IgG4 亚型沉积三项指标, 但例数较少, 且继发性因素集中于 SLE, 还需收集更多病例来验证该结果。

#### 【参考文献】

- [1] Li LS, Liu ZH. Epidemiologic date of renal disease from single unit in China: analysis based on 13, 519 renal biopsies [J]. *Kindney Int*, 2004, 66(3):920-923.
- [2] 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(2):11-21.
- [3] Hofstra JM, Beck LH, 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] 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.
- [5] Beck LH, Fervenza FC, Beck DM, et al. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R antibodies predicts response in membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(8):1543-1550.
- [6] Debiec H, Ronco P. PLA2R antibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(4):689-690.
- [7] Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1982, 25(11):1271-1277.
- [8] Hochberg MC. Updating of the American College of Rheumatology revised criteria for the classification erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9):1725.
- [9] Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, et al. Derivation and validation of the lupus international collaborating clinic classification criteria for systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(8):2677-2686.
- [10] Weening JJ, D Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited [J]. *Kindney Int*, 2004, 65(2):521-530.
- [11] 《中华内科杂志》编委会. 乙型肝炎病毒相关性肾炎座谈会纪要 [J]. *中华内科杂志*, 1990, 29(9):519-521.
- [12] Levey AS. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(1):20-29.
- [13] 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.
- [14] 林伟峰, 李航, 李雪梅, 等. 抗磷脂酶 A2 受体抗体与特发性膜性肾病的关系 [J]. *中华内科杂志*, 2015, 54(9):783-788.
- [15] Oh YJ, Yang SH, Kim DK, et al. Autoantibodies against phospholipase A2 receptor in Korean patients with membranous nephropathy [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4):e62151.
- [16] Gunnarsson I, Schlumberger W, Ronnelid J. Antibodies to M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) and membranous lupus nephritis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 59(4):585-586.
- [17] Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(6):1137-1143.
- [18] Svobodova B, Honsova E, Ronco P, et al. Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(7):1839-1844.
- [19] Larsen CP, Messias NC, Silva FG, et al. Determination of primary versus secondary membranous glomerulopathy utilizing phospholipase A2 receptor staining in renal biopsies [J]. *Mod Pathol*, 2013, 26(5):709-715.
- [20] Hoxha E, Kneissler U, Stege G, et al. Enhanced expression of the M-type phospholipase A2 receptor in glomeruli correlates with serum receptor antibodies in primary membranous nephropathy [J]. *Kindney Int*, 2012, 82(7):797-804.
- [21] 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.
- [22] 钱玉珺, 左科, 李世军, 等. 膜性肾病合并新月体形成的临床病理分析 [N]. *医学研究生学报*, 2015, 28(12):1262-1267.
- [23] 陈幸, 蔡美顺, 王梅. 不典型膜性肾病患者血清 M 型磷脂酶 A2 受体抗体及肾组织 IgG 亚型分布的研究 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2014, 30(6):406-412.

(收稿日期:2016-09-26; 修回日期:2017-04-17)

(本文编辑:叶华珍; 英文编辑:王建东)