

· 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 anti-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%^[1]。Beck 等^[2]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^[2-6]。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^[7-8],或国际合作组 2012 年修订的分类标准^[9],病理类型参照文献^[10](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^[11]: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^[12]。

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/(假阳性+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($\mu\text{mol/L}$)	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 [$\text{mL}/(\text{min}\cdot 1.73\text{m}^2)$]	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。

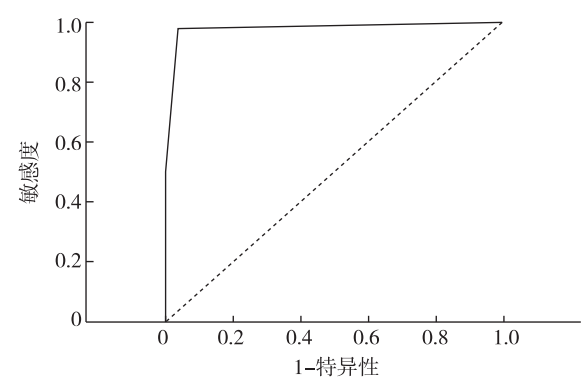


图 1 肾小球 PLA2R 表达和血清抗 PLA2R 抗体诊断的 ROC 曲线

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^[2,13]。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^[14-15]。

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^[16-18]。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^[19]。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^[14], 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%)^[4,19-22]。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 是其主要致病抗体。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^[23]。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]. *Kidney 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]. *Kidney 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]. *Kidney 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)