

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.033

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.033>

特发性膜性肾病相关抗原的研究进展

付云飞, 王蓉辉, 解汝娟 综述 刘晓刚 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院肾内科, 哈尔滨 150000)

[摘要] 膜性肾病(membranous nephropathy, MN)是成人除糖尿病外致肾病综合征的主要原因, 可分为特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)和继发性膜性肾病(secondary membranous nephropathy, SMN), 其中IMN占主要地位。MN组织病变的发病机制包括免疫复合物在肾小球沉积、补体激活和肾小管间质损伤。因发病机制不同, IMN和SMN在治疗上差别大, 且经研究约一半MN患者预后不佳, 因此明确诊断尤为重要。目前研究发现多种抗原在IMN的致病过程中发挥重要作用。

[关键词] 特发性膜性肾病; M型磷脂酶A2受体; 1型血小板反应蛋白7A域; 中性内肽酶

Research progress in the related antigens of idiopathic membranous nephropathy

FU Yunfei, WANG Ronghui, XIE Rujuan, LIU Xiaogang

(Department of Nephrology, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

Abstract Membranous nephropathy (MN) is the main cause of nephrotic syndrome in adults other than diabetes. It can be divided into idiopathic membranous nephropathy (IMN) and secondary membranous nephropathy (SMN) and the IMN is dominant. The pathogenesis of MN tissue lesions includes immune complexes in glomerular deposition, complement activation, and tubulointerstitial damage. Because of the different pathogenesis, IMN and SMN are very different in treatment, and studies have shown that about half of MN patients have a poor prognosis, so it is particularly important to confirm the diagnosis. At present, a variety of antigens have been found to play an important role in the pathogenesis of IMN, and such antigens have been studied as hotspots.

Keywords idiopathic membranous nephropathy; M-type phospholipase A2 receptor; thrombospondin type 1 domain-containing 7A; neutral endopeptidase

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)是成人除糖尿病外致肾病综合征的主要原因^[1], 组织学表现为上皮下免疫复合物沉积, 伴肾小球基底膜增厚并钉突形成^[2]。MN中约75%为特发性膜性

肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN), 约25%是继发性膜性肾病(secondary membranous nephropathy, SMN)。后者包括感染(病毒性肝炎)、自身免疫性疾病(狼疮)、肿瘤相关性肾炎

收稿日期 (Date of reception): 2018-10-12

通信作者 (Corresponding author): 刘晓刚, Email: hrb-lxg@163.com

(癌症)及药物相关性肾炎(重金属盐,特别是金盐、D-青霉胺及其衍生物、非甾体抗炎药等)^[3]。MN中40%~50%可自发缓解,其余患者5~15年间进展为终末期肾病或死于并发症,或死于非肾相关疾病,6%~23%的MN患者在患病十年后需透析治疗^[4]。

IMN是一种非炎症性器官特异性的自身免疫性疾病,组织病变的发病机制包括免疫复合物在肾小球沉积、补体激活和肾小管间质损伤^[3]。目前研究参与IMN发病的相关抗原有关M型磷脂酶A2受体、1型血小板反应蛋白7A域、中性内肽酶、超氧化物歧化酶、醛糖还原酶和 α 烯醇化酶。经肾活组织检查发现在肾小球基底膜和足细胞之间的免疫复合沉积物包含“外源”或足细胞固有的抗原、针对这些抗原的免疫球蛋白亚型以及补体系统尤其是对足细胞膜的膜攻击复合物。其中IMN肾组织免疫球蛋白亚型表达情况:IgG4为81%~100%,IgG1为75%~81%,IgG2及IgG3为25%;IgG4不仅阳性率最高,且染色最强^[5]。多项研究显示IMN不同病理分期及SMN的IgG亚型不同,具有一定的鉴别诊断意义:IMN I期以IgG1为主(阳性率为64%),II~IV期以IgG4为主(阳性率为76%),而SMN以IgG1为主^[6]。故MN肾组织抗原(如PLA2R和THSD7A)染色阳性而IgG4阴性的患者可能在早期被诊断出来。符合IMN相关抗原必须满足至少3个标准:特定的IgG4从显微解剖的肾小球上洗脱下来;循环中存在自身抗体;抗原与IgG4和C5b-9在肾小球上皮细胞下共同形成沉积物(也称为“膜攻击复合物”)^[7]。由于IMN和SMN的治疗方案差别大,且肾活检为目前确诊的唯一方法,明确诊断对疾病的治疗尤为重要,但有肾活检禁忌证的患者或高龄不愿行肾活检的患者只能试验性治疗,若可通过检测特异性抗原、抗体等替代方法来明确诊断,将会是广大MN患者的福音。

1 针对足细胞膜的抗原

1.1 M型磷脂酶A2受体

M型磷脂酶A2受体(M-type phospholipase A2 receptor, PLA2R)是分泌型磷脂酶A2的1型跨膜受体,其为甘露糖受体家族的成员,分子质量约185 kD^[8]。其由跨膜区域、胞质尾部和一个大的糖基化细胞外部分组成,细胞外部分可分为10个结构域:N端富含半胱氨酸的结构域(cysteine-rich, CysR),纤连蛋白样II型结构域(fibronectin-like type II, FnII)和8个重复的C型凝集素样结构

域(C-type lectin-like domain, CTLD)^[9]。2009年Beck等^[10]首次在70%的患者中检测到PLA2R,证明此抗原为IMN的主要抗原,并发现PLA2R在小鼠和大鼠的足细胞中都不表达,因此抗PLA2R抗体的致病作用受到啮齿动物肾小球中PLA2R缺乏表达的阻碍,但由靶向PLA2R受体的单克隆IgG3克引起移植肾出现MN证明了该抗体的致病作用^[11]。PLA2R做为致病抗原依赖于分子内二硫键的构型,表现为抗原活性在N端去糖基化后持续存在,在二硫键还原后消失^[12]。Kao等^[9]发现血清抗PLA2R抗体识别PLA2R的CysR-FnII-CTLD1结构域复合物,而不识别单独或两个结合的结构域,表明PLA2R中的免疫显性表位仅位于CysR-FnII-CTLD1区域中;且CTLD1结构域通过二硫键与FnII结构域互锁,也证明二硫键决定了抗原性表位构型。

PLA2R在IMN检出率达70%以上^[13-14],肾小球上皮沉积物中的抗原检出率比肾活检时检测循环抗体更敏感,且肾小球中PLA2R阳性染色与血清中PLA2R抗体的存在密切相关^[14]。根据最近的一项荟萃分析,所有PLA2R研究的敏感性为78%,特异性为99%,肾病综合征患者抗PLA2R抗体检测可被视为诊断IMN的生物标志物^[15]。这个重要的依据对于不能行肾活检的患者,例如孤立肾或出血风险高的将会有很大的帮助。Liu等^[16]通过ROC曲线下面积确定使用ELISA对中国患者进行IMN诊断的抗PLA2R的最佳临界值为2.6 RU/mL,血清抗PLA2R诊断IMN的敏感性和特异性分别为78.9%和91.7%。循环抗PLA2R抗体被认为是与疾病活动性(蛋白尿程度)相关的免疫活性的有效生物标志物,并且可用于预测临床结果,例如治疗反应,长期肾功能和疾病复发^[14]。Pourcine等^[13]的研究表明半年内从血清中清除抗PLA2R抗体的患者临床缓解的机会比持续血清阳性患者更大,并确定预测疾病结果的抗PLA2R抗体效价为97.6 U/mL,在该范围内,发展为慢性肾病4期及以上的可能性很小,缓解期的患者如果抗PLA2R抗体滴度高,则易复发。Kronbichler等^[17]发现肾移植后复发IMN与抗PLA2R抗体阳性有相关性,>45 U/mL的抗PLA2R抗体水平可预测移植后复发,灵敏度和特异性都达到80%以上。一项利用妥昔单抗治疗的患者的研究^[18]表明:在蛋白尿消失之前,抗体先消失,说明在达到肾脏缓解前的免疫缓解期可停止免疫抑制治疗。Seitz-Polski等^[19]从分子学角度证实:免疫反应的产生从抗PLA2R抗体结合于最远端的CysR区域开始,依次结合到

CTLD1, CTLD7表位, CysR, CysR+CTLD1到CysR+CTLD1+CTLD7抗体表位的扩散与蛋白尿增加和疾病预后不良有关。

1.2 1型血小板反应蛋白7A域

1型血小板反应蛋白7A域(thrombospondin type 1 domain-containing 7A, THSD7A)是位于肾小球足细胞足突上的约250 kD的蛋白质, 2014年由Tomas等^[20]在MN中首次发现; THSD7A具有大的胞外区域、单跨膜结构域和短的胞内尾部, 细胞外部分含有11个1型血小板反应蛋白重复序列(thrombospondin type-1, TSP-1)和1个精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(arginine-glycine-aspartic acid, RGD)基序, 同时发现IgG4也是抗THSD7A抗体的主要IgG亚型。THSD7A是参与组织修复过程中细胞行为调控的细胞外基质糖蛋白家族中的特征成员, 它与葡萄糖胺聚糖、钙网蛋白和整联蛋白相互作用, 调节细胞外环境中的细胞黏附; 此外还介导低密度脂蛋白受体在各种细胞表面吸附和清除过程中的相互作用, 并调节血小板聚集过程中与纤维蛋白原的相互作用^[21]。Tomas等^[22]再次通过体外实验将人抗THSD7A抗体与表达THSD7A的鼠肾小球上皮细胞和人胚肾293细胞结合, 促进THSD7A表达细胞的细胞骨架重排, 导致皮质F-肌动蛋白纤维的水平增高, 证明了单纯的抗THSD7A抗体可导致MN, 并在啮齿类动物中成功造模。研究^[23]表明自身抗体也主要靶向抗原N端部分, 大多数识别THSD7A中的多个表位结构域, 且识别表位多的血清显示比识别表位少的血清有更高的抗THSD7A抗体水平。

据报道2.4%~9.1%^[2,24]IMN肾组织的THSD7A阳性, 阳性率虽低, 但特异性接近100%, 在正常人群及除IMN外的其他肾小球疾病中未发现该抗原阳性^[20,25], 说明此抗原可辅助鉴别IMN与SMN及其他肾小球疾病。THSD7A相关IMN患者发病较年轻, 更有趣的是女性比男性小^[26]。Sharma等^[24]研究发现高滴度抗THSD7A抗体水平与预后差相关, 但抗体滴度与治疗反应未发现明确关系, 而Wang等^[27]发现抗体滴度降低的同时患者也达到了部分缓解。因此, 我们分析产生这种结果的原因可能有: 抗THSD7A在MN中阳性率低, 故以THSD7A相关IMN作为研究样本, 数量较少; 入组患者地域不同, 可能存在选择性偏倚。

1.3 中性内肽酶

中性内肽酶(neutral endopeptidase, NEP)是

约700个残基组成的锌依赖性金属肽酶, 也称为CD10或常见急性淋巴细胞白血病抗原(common acute lymphoblastic leukaemia antigen, CALLA), 2002年Debiec等^[28]在产前MN中首次发现为致病足细胞抗原。患儿母亲是编码NEP的金属蛋白酶内肽酶(metallomembrane endopeptidase, MME)截短突变的纯合子或复合杂合突变携带者, 体内无NEP表达, 在初次怀孕时或接触精子等免疫, 产生的抗NEP抗体于再次怀孕时进入胎儿血液循环致病^[29]。除了免疫复合物机制外, NEP还灭活利钠肽, 当NEP与抗体结合后导致利钠肽和内皮渗透性升高, 诱导蛋白尿的发生^[30]。患儿肾严重程度及预后与母体抗NEP抗体滴度及IgG亚型有关, 母源补体结合抗NEP的IgG1抗体是发病的必要条件, 且IgG1比IgG4对胎儿有更高毒性^[31]。NEP的同种免疫应视为低龄MN的主要原因, 在少年时发现特发性慢性肾脏病者, 应考虑与其母亲NEP表达缺陷相关。目前报道NEP相关的MN罕见(5例和2例)^[29-30], 可能与母体IgG在新生儿血液循环中半衰期短有关, 猜测与临床检测落后于实验及家庭和医生对该抗体认识不够也有一定联系。

2 针对足细胞质的抗原

Murtas等^[32]在肾小球的洗脱液及大部分MN患者的血清中发现针对超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD2)、醛糖还原酶(aldehyde reductase, AR)和 α 烯醇化酶(α -enolase, α -ENO)的特异性抗体, 并通过双重染色和电子显微镜证明特异性抗体与它们各自的自身抗原的肾小球共定位。 α 特异性抗体是糖酵解中2-磷酸甘油酸脱水为磷酸烯醇丙酮酸盐的催化剂, 它主要在肾小管细胞和肝上皮细胞中表达^[7]。AR属于催化脂肪族和芳香族醛和酮的NADPH依赖性醛-酮还原酶家族, 在肾脏中表达于髓质的肾小管上皮细胞。SOD2是广泛的抗氧化细胞保护系统的关键组成部分, 将有毒的超氧离子转化为 H_2O_2 和双原子氧, 主要存在于肾小管上皮细胞中^[33]。此类抗原在生理上存在于细胞质, 但具有被诱导和驱化至足细胞膜上的能力, 正常条件下不能被循环抗体识别, 在氧化应激的情况下, 它们可以迁移到细胞膜并作为循环抗体的靶标, 而补体激活导致膜攻击复合物的形成是足细胞中氧化应激的原因^[34]。由PLA2R及THSD7A的免疫复合物诱导的初始损伤引起氧化应激, 这可能是造成这种蛋白质抗原表达的原因, 形成新的自身抗体^[35]。Murtas等^[32]的研究中未发现单一

的细胞质抗原的特异性抗体与临床结果明显相关, 但所有抗体阴性的患者临床缓解率更高。

IMN是自身免疫性疾病, 除上述相关抗原外, Bruschi等^[7]还发现足细胞靶抗原: 甘氨酸氨酰基-tRNA合成酶、延长因子2参与MN发病过程, 但由于MN发病机制复杂, 此类抗原是起病中的始动因素, 还是其他致病途径中的一环还有待进一步研究。除此之外, Takahashi等^[36]也发现获得性卵磷脂-胆固醇乙酰转移酶(Icithin-cholesterol acyltransferase, LCAT)缺陷的患者, 肾小球毛细血管壁区段可检测到抑制性抗LCAT抗体和LCAT抗原, 且这些患者已经出现MN。尽管PLA2R/THSD7A联合检出率相当高, 仍有双阴性的患者, 或许有其他目前还未发现的抗原抗体, 仍需科研发者进一步探究。

参考文献

1. Sumnu A, Gursu M, Ozturk S. Primary glomerular diseases in the elderly [J]. *World J Nephrol*, 2015, 4(2): 263-270.
2. Debiec H, Ronco P. Immunopathogenesis of membranous nephropathy: an update[J]. *Semin Immunopathol*, 2014, 36(4): 381-397.
3. Pozdzik A, Brocheriou I, David C, et al. Membranous nephropathy and anti-podocytes antibodies: implications for the diagnostic workup and disease management[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 6281054.
4. Glasscock RJ. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy[J]. *Semin Nephrol*, 2003, 23(4): 324-332.
5. Filippone EJ. Idiopathic membranous nephropathy and IgG4: an interesting relationship[J]. *Clin Nephrol*, 2014, 82(1): 7-15.
6. 邱明珠, 郑智勇. 原发性膜性肾病研究新进展[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(8): 889-892.
QIU Mingzhu, ZHENG Zhiyong. Recent progress in primary membranous nephropathy[J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2018, 34(8): 889-892.
7. Bruschi M, Carnevali ML, Murtas C, et al. Direct characterization of target podocyte antigens and auto-antibodies in human membranous glomerulonephritis: Alfa-enolase and borderline antigens[J]. *J Proteomics*, 2011, 74(10): 2008-2017.
8. Ronco P, Debiec H. Anti-phospholipase A2 receptor antibodies and the pathogenesis of membranous nephropathy[J]. *Nephron Clin Pract*, 2014, 128(3/4): 232-237.
9. Kao L, Lam V, Waldman M, et al. Identification of the immunodominant epitope region in phospholipase A2 receptor-mediating autoantibody binding in idiopathic membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(2): 291-301.
10. 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.
11. Debiec H, Hanoy M, Francois A, et al. Recurrent membranous nephropathy in an allograft caused by IgG3k targeting the PLA2R receptor[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(12): 1949-1954.
12. Llorca O. Extended and bent conformations of the mannose receptor family[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(9): 1302-1310.
13. 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.
14. 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.
15. Du Y, Li J, He F, et al. The diagnosis accuracy of PLA2R-AB in the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104936.
16. Liu Y, Li X, Ma C, et al. Serum anti-PLA2R antibody as a diagnostic biomarker of idiopathic membranous nephropathy: The optimal cut-off value for Chinese patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 476: 9-14.
17. Kronbichler A, Oh J, Meijers B, et al. Recent progress in deciphering the etiopathogenesis of primary membranous nephropathy[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1936372.
18. Beck LH, Fervenza FC, Beck DM, et al. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(8): 1543-1550.
19. Seitz-Polski B, Dolla G, Payre C, et al. Epitope Spreading of Autoantibody Response to PLA2R Associates with Poor Prognosis in Membranous Nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(5): 1517-1533.
20. Tomas NM, Beck LH, 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.
21. Pozdzik A, Brocheriou I, David C, et al. Membranous nephropathy and anti-podocytes antibodies: implications for the diagnostic workup and disease management[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 6281054.
22. Tomas NM, Hoxha E, Reinicke AT, et al. Autoantibodies against thrombospondin type 1 domain-containing 7A induce membranous nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7): 2519-2532.
23. Seifert L, Hoxha E, Eichhoff AM, et al. The most N-terminal region of THSD7A is the predominant target for autoimmunity in THSD7A-associated membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(5): 1536-1548.
24. Sharma SG, Larsen CP. Tissue staining for THSD7A in glomeruli correlates with serum antibodies in primary membranous nephropathy:

- a clinicopathological study[J]. *Mod Pathol*, 2018, 31(4): 616-622.
25. Iwakura T, Ohashi N, Kato A, et al. Prevalence of enhanced granular expression of thrombospondin type-1 domain-containing 7A in the glomeruli of Japanese patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138841.
 26. Iwakura T, Fujigaki Y, Katahashi N, et al. Membranous nephropathy with an enhanced granular expression of thrombospondin type-1 domain-containing 7A in a pregnant woman[J]. *Intern Med*, 2016, 55(18): 2663-2668.
 27. Wang J, Cui Z, Lu J, et al. Circulating antibodies against thrombospondin type-I domain-containing 7A in Chinese patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017, 12(10): 1642-1651.
 28. Debiec H, Guignonis V, Mougenot B, et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies[J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(26): 2053-2060.
 29. Debiec H, Nauta J, Coulet F, et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies[J]. *Lancet*, 2004, 364(9441): 1252-1259.
 30. Hu P, Lu L, Hu B, et al. Renal action of C-type natriuretic peptide: advocating the isolated perfused rat kidney model[J]. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2010, 21(4): 613-620.
 31. Vivarelli M, Emma F, Debiec H, et al. Genetic homogeneity but IgG subclass-dependent clinical variability of alloimmune membranous nephropathy with anti-neutral endopeptidase antibodies[J]. *Kidney Int*, 2015, 87(3): 602-609.
 32. Murtas C, Bruschi M, Candiano G, et al. Coexistence of different circulating anti-podocyte antibodies in membranous nephropathy[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(9): 1394-1400.
 33. Prunotto M, Carnevali ML, Candiano G, et al. Autoimmunity in Membranous Nephropathy Targets Aldose Reductase and SOD2[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(3): 507-519.
 34. Ma H, Sandor DG, Beck LH. The role of complement in membranous nephropathy[J]. *Semin Nephrol*, 2013, 33(6): 531-542.
 35. Cattran DC, Brenchley PE. Membranous nephropathy: integrating basic science into improved clinical management[J]. *Kidney Int*, 2017, 91(3): 566-574.
 36. Takahashi S, Hiromura K, Tsukida M, et al. Nephrotic syndrome caused by immune-mediated acquired LCAT deficiency[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(8): 1305-1312.

本文引用: 付云飞, 王蓉辉, 解汝娟, 刘晓刚. 特发性膜性肾病相关抗原的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(2): 424-428. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.033

Cite this article as: FU Yunfei, WANG Ronghui, XIE Rujuan, LIU Xiaogang. Research progress in the related antigens of idiopathic membranous nephropathy[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(2): 424-428. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.033