

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.03.029

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190114.1307.046.html>(2019-01-15)

1 型血小板反应蛋白 7A 域检测在特发性膜性肾病中的应用研究进展*

申绯翡¹综述,马雷雷^{2△}审校

(1. 洛阳职业技术学院药学与检验系,河南洛阳 471000;2. 天津中医药大学第一附属医院肾病科,天津 300193)

[摘要] 特发性膜性肾病是临床上常见的导致成人肾病综合征的临床病理类型,目前已经发现抗磷脂酶 A2 受体(PLA2R)抗体是导致特发性膜性肾病的主要抗体,但近年发现的 1 型血小板反应蛋白 7A 域(THSD7A)抗体是导致特发性膜性肾病的另一个主要抗体,而且目前研究发现与 PLA2R 抗体相关的特发性膜性肾病患者相比,THSD7A 抗体相关的特发性膜性肾病有其自身的临床和病理特点。本文主要从 THSD7A 的结构特点、检测方法,以及在特发性膜性肾病患者临床应用进行主要综述。

[关键词] 1 型血小板反应蛋白 7A 域;特发性膜性肾病;临床检测

[中图分类号] R446.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)03-0476-03

膜性肾病(MN)是成人肾病综合征常见的原发性肾脏病理类型,发病率为 20%~37%,60 岁人群的发病率比例可高达 40%^[1-2];儿童的发病率较少,为 1%~7%^[3]。不同国家 MN 发病率稍有不同,在美国,原发性膜性肾病(IMN)发病率约为 12/100 万人口,平均发病年龄 50~60 岁,男女比例约为 2:1,而且在白种人肾脏损伤中更常见^[4]。根据我国 2016 年 6 月发表的一项针对全国 282 个城市的 938 家医院 7 万余例肾脏病理研究显示,我国 MN 发病率为 23.4%,在过去 10 年中我国 MN 发病率增加了 1 倍,发病率增加与空气污染有关^[5]。近些年研究已经发现了导致 IMN 发生的两个主要足细胞自身抗原,分别是 2009 年 BECK 等^[6]发现的 M 型磷脂酶 A2 受体(PLA2R)和 2014 年 TOMAS 等^[7]发现的足细胞抗原 1 型血小板反应蛋白 7A 域(THSD7A)。目前已经有较多的针对 PLA2R 受体和抗体的研究报道,而针对 THSD7A 的研究较少,因此,本文主要针对 THSD7A 的自身结构、检测方法,以及在 IMN 中的应用价值等方面进行简要综述。

1 THSD7A 的发现

2009 年,BECK 等^[6]发现 PLA2R 抗体是导致 IMN 的主要病因,随后的多项研究也证实,PLA2R 抗体在 IMN 患者体内的阳性率为 70%~80%^[8-10],而仍有 20%左右的 IMN 患者没有明确的病因。直到 2014 年,TOMAS 等^[7]的研究结果才发现,THSD7A 是导致 IMN 发病的另一个病因,TOMAS 利用 Western blot、质谱分析、免疫沉淀等方法对 IMN 患者、其他肾脏病患者及健康人群的血清进行了抗体筛查,共筛查了 154 例抗 PLA2R 抗体阴性的 IMN 患者血清,

其中 15 例患者血清内发现了一个相对分子质量为 250×10^3 的肾小球蛋白,而在血清 PLA2R 抗体阳性的 IMN 患者、其他肾脏病患者及健康人群的血清内未发现该蛋白。TOMAS 通过质谱分析技术发现该球蛋白即为 THSD7A,对这些 THSD7A 抗体阳性患者进行肾组织切片研究可以发现沉积于足细胞的 THSD7A 抗原,因此医学界认为 THSD7A 是 IMN 的另外一个主要抗原。现在基本能确定在大约 80% 的 IMN 患者体内可以发现阳性的 PLA2R 抗体或 THSD7A 抗体^[4],但仍有 10%~20% 的上述抗体阴性的 IMN 患者没有找到明确的抗原,导致 IMN 的新的致病抗原仍然需要进一步研究。

2 THSD7A 在 IMN 患者中的检出率

THSD7A 在 IMN 患者体内的检出率似乎并不高,但特异度却可以达到 100%。在 TOMAS 等^[7]的研究中,154 例抗 PLA2R 抗体阴性的患者血清中,15 例患者检测出了 THSD7A 抗体,阳性率为 9.74%,如果检测所有 IMN 患者,阳性率可能会更低,同时该研究结果也发现女性 THSD7A 阳性率高于男性(65% vs. 27%),而在 HOXHA 等^[11]的前瞻性研究中,THSD7A 相关的 IMN 患者阳性率为 2.6%,并且大多数是女性,目前也已经有妊娠期妇女 THSD7A 相关的 IMN 的病例报道^[12]。日本的一项研究共纳入了 92 例连续入组 IMN 患者,然后通过免疫组织化学方法检测患者肾组织中 THSD7A 和 PLA2R 的表达情况,结果发现 THSD7A 的检出率为 9.1%,而 PLA2R 的检出率为 52.7%,同样也发现女性 THSD7A 阳性率较高^[13]。来自 HAYASHI 等^[14]的另外一项日本研究结果发现抗 THSD7A 抗体阳性率

* 基金项目:河南省职业教育教学改革项目(ZJC1602)。 作者简介:申绯翡(1982-),讲师,本科,主要从事检验医学的教学和临床科研方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:maleilei0606@126.com。

为 3.4%。LARSEN 等^[15]对 258 例 IMN 患者肾组织抗原检测结果发现,仅有 7 例 THSD7A 阳性,占比 3%,141 例患者 PLA2R 阳性,占比 55%,两者同时阳性的仅有 2 例,随后利用血清学检测发现血清抗体检测结果与肾组织抗原染色有绝对的相关性。

国内学者针对 THSD7A 也开展了一些研究,温丽颖等^[16]的研究结果发现,在 112 例 MN 患者[其中 IMN86 例,继发性膜性肾病(SMN)30 例]中,PLA2R、THSD7A 在肾组织检出率分别为 88.4%、2.3%。另外一位学者的研究结果发现,在 18 例 PLA2R 阴性的 IMN 患者中,有 1 例循环抗 THSD7A 抗体阳性,2 例肾组织 THSD7A 抗原阳性^[17]。目前为止,国内有关 MN 患者 THSD7A 检测的大样本研究来自于北京大学第一医院,该研究纳入了 2008—2016 年经肾活检证实的 578 例 IMN 患者及 114 例 SMN 患者,随后使用免疫荧光法研究循环中抗 THSD7A 抗体和抗 PLA2R 抗体水平,同时检测肾脏组织两种抗原的表达。结果发现,在 578 例 IMN 患者中,89% 患者与 PLA2R 相关,仅 2% 的患者与 THSD7A 相关^[18]。上述结果提示,THSD7A 相关的膜性肾病发病率并不高,而且目前都是一些小样本量的研究,该结论仍需要进一步大样本量研究来验证。

3 THSD7A 的结构特点

目前针对 THSD7A 结构及功能特点的研究较少,既往的研究也主要集中于 THSD7A 可以介导内皮细胞迁移和血管生成等功能^[19],直到 2014 年才发现该分子与 IMN 的发生相关。THSD7A 的相对分子质量为 250×10^3 ,主要表达于人体肾小球足细胞,属跨膜蛋白。THSD7A 主要由 3 个部分构成,包括细胞外结构域、跨膜结构域和细胞内尾部,细胞外结构域由 11 个 1 型血小板反应结构域和精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸膜体组成,富含二硫键及 N-糖基化区域。目前已知 THSD7A 和 PLA2R 结构及生化特性相似,抗 THSD7A 抗体亚型是免疫球蛋白(Ig)G4 且仅在非还原情况下识别 THSD7A^[20-21]。对肾组织切片染色可以发现,THSD7A 主要表达于接近足细胞足突的位置,但关于 THSD7A 导致 MN 的抗原表位研究较少,目前认为 THSD7A 相关的 MN 致病机制为抗 THSD7A 抗体与沉积肾小球足细胞足突表面的 THSD7A 抗原相结合,形成抗原抗体复合物,随后激活补体系统进而形成 C5b-9 膜攻击复合物,致使肾小球足细胞损伤,肾小球的滤过屏障破坏,进而产生大量蛋白尿。

虽然 PLA2R 抗体在 IMN 患者体内阳性率明显高于 THSD7A,但在动物实验上却表现出不同的特点。自 2009 年发现 PLA2R 是多数 IMN 患者致病抗原,众多学者就试图建立 PLA2R 相关的 IMN 模型,

以期开展有关接近人体 IMN 的基础研究,但 PLA2R 抗原本身在啮齿类动物足细胞膜上的表达缺失限制了该研究愿望的实现。相反,THSD7A 在啮齿动物和人体肾组织足细胞却高表达,而且蛋白表达部位与人类相同,这对于建立 IMN 病理模型,开展基础研究具有重大意义^[22-24]。

4 THSD7A 的检测方法

抗 THSD7A 抗体最初发现使用的方法是质谱分析,随后的研究大多是采用免疫组织化学染色的方法对肾组织进行染色和测定。有学者对比了 Western blot 与免疫荧光技术(IFT)两种方法测定 1 276 例 MN 患者血清 THSD7A 后的结果,最终发现与 Western blot 技术相比,IFT 显示出 100% 的特异度和 92% 的灵敏度,而且目前在临床上由于 Western blot 技术临床操作复杂,测定周期较长,因此临床上用于实验室检测有很大的局限性^[11]。国内文献目前测定 THSD7A 的方法主要为间接免疫荧光试验^[16-18],目前国内对于 PLA2R 抗体检测技术已经很成熟,虽然已有针对 THSD7A 的 ELISA 试剂出售,但临床上的应用仍较少,因此有学者呼吁,希望国内检验学界尽快研究与 PLA2R 抗体和 THSD7A 抗体有关的检测技术^[25]。

另外,在临床中对于怀疑 IMN 的患者除了进行血清抗 THSD7A 抗体的筛查之外,也应进行肾组织 THSD7A 抗原染色,两者结合会进一步提高诊断 IMN 的特异性和准确性。已经有研究发现 1 例 THSD7A 相关性 IMN 患者,肾活检显示 THSD7A 染色增强,但血清检测却未检测到抗 THSD7A 抗体,表明 THSD7A 的肾活检染色对 THSD7A 相关性 IMN 的诊断更加有说服力^[11],这一点与 PLA2R 相关性 IMN 类似,国内也有肾组织 THSD7A 染色阳性而血清检测阴性的病例报道^[18]。因此,建议对于临床上怀疑 MN 的患者应该进行肾组织和血清的双重检测,从此确保诊断的正确性。

5 THSD7A 相关的 IMN 和肿瘤

虽然目前认为 THSD7A 是 IMN 的另一个致病抗原,但一个有趣的发现是,THSD7A 与人类肿瘤的发生似乎有一定的关系。STAHL 等^[26]对包括 70 余种肿瘤的 20 000 份组织进行病理分析,结果发现 THSD7A 在不同的肿瘤形成中表达明显不同,与非肿瘤组织相比,不同肿瘤实体肿瘤细胞 THSD7A 表达的获得和缺失与肿瘤特异性标记物相关,并且对患者预后有一定的价值。目前可以明确的是,肿瘤可导致 SMN 的发生,尽管两者之间的分子机制目前还不明确^[27-28]。

THSD7A 相关的膜性肾病与恶性肿瘤之间的关系如何,一些研究似乎给出了答案。日本的一项研究

显示, THSD7A 相关的 IMN 患者相关性肿瘤的发病率为 9.1%^[13]; 欧洲一项研究发现 THSD7A 相关的 IMN 患者淋巴瘤发病率为 13.63%^[7]; 美国和欧洲的一个大型队列研究数据表明, 大约 20% THSD7A 相关的 MN 患者在平均确诊肾病的 3 个月之内被诊断为恶性肿瘤, 包括膀胱癌、妇科肿瘤、淋巴瘤、消化道肿瘤、前列腺癌等^[11]。而且与 PLA2R 相关的 MN 患者相比, THSD7A 相关的 MN 患者更容易发生恶性肿瘤。与国外研究不同的是, 国内关于 THSD7A 相关膜性肾病的研究结果发现, 在 29 例循环中抗 PLA2R 抗体阳性的 SMN 患者中, 有 18 例是肿瘤相关的, 而仅有 1 例膀胱癌患者循环抗 THSD7A 抗体阳性 (占肿瘤患者的 2%, 占有 SMN 患者的 0.9%)^[18]。综上所述可以发现, THSD7A 相关的 MN 患者似乎与肿瘤之间存在一定的联系, 鉴于目前上述研究均是小样本量研究, 因此对以上结果仍需谨慎对待, 两者之间到底是继发关系还是两种疾病合并发生仍然没有定论, 但上述研究也提醒对 THSD7A 相关的 MN 患者在随访过程中应加强对肿瘤的筛查, 以做到及时发现和治疗。

6 小 结

目前, 针对 IMN 的发病机制研究已经取得了一定的进展, 但在今后临床和基础仍有许多研究需要开展, 具体包括: (1) 进一步探索除了 PLA2R 抗体和 THSD7A 抗体以外的导致 IMN 的发病机制; (2) 目前发现 THSD7A 在啮齿类动物的肾小球足细胞中表达, 因此可以建立 THSD7A 相关的 IMN 动物模型, 进一步研究 IMN 的发病机制和治疗方法, 以弥补目前临床中 IMN 治疗的不足; (3) 我国 IMN 发病率较高, 患者人数众多, 有必要进一步开展国内 THSD7A 相关的 IMN 患者的临床特点及预后相关性研究; (4) 加快 PLA2R 抗体和 THSD7A 抗体试剂盒的研究和检测技术的推广, 并保证其稳定性和准确性, 尽快能够在临床中开展相关实验室检测, 为临床服务。

参考文献

[1] CATTRAN D C, BRENCHLEY P E. 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] KUMAR V, RAMACHANDRAN R, KUMAR A, et al. Antibodies to m-type phospholipase A2 receptor in children with idiopathic membranous nephropathy[J]. *Nephrology*, 2015, 20(8): 572-575.

[4] DE VRIESE A S, GLASSOCK R J, NATH K A, et al. A proposal for a serology-based approach to membranous ne-

phropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(2): 421-430.

[5] XU X, WANG G, CHEN N, et al. Long-Term exposure to air pollution and increased risk of membranous nephropathy in China[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(12): 3739-3746.

[6] 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.

[7] 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.

[8] HOXHA E, THIELE I, ZAHNER G, et al. Phospholipase a2 receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(6): 1357-1366.

[9] QIN W, BECK L H, ZENG C, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(6): 1137-1143.

[10] AKIYAMA S, AKIYAMA M, IMAI E, et al. Prevalence of anti-phospholipase A2 receptor antibodies in Japanese patients with membranous nephropathy clinical and experimental[J]. *Nephrology*, 2015, 19(4): 653-660.

[11] HOXHA E, BECK J, WIECH T, et al. An indirect immunofluorescence method facilitates detection of thrombospondin type 1 domain-containing 7A-specific antibodies in membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(2): 520-531.

[12] 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]. *Inter Med*, 2016, 55(18): 2663-2668.

[13] 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.

[14] HAYASHI N, MATSUI Y, IMURA J, et al. Prevalence of m-type phospholipase a2 receptor (PLA2R) and thrombospondin type-1 domain-containing 7a (THSD7A) in the glomerular deposits of Japanese membranous nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transpl*, 2016, 31(1): 134.

[15] LARSEN C P, COSSEY L N, BECK L H. THSD7A staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity[J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(4): 421-426.

[16] 温丽颖, 李绍梅, 闫喆, 等. M 型磷脂酶 A2 受体及 1 型血小板反应蛋白 7A 域在成人特发性膜性肾病的表达及其意义[J]. *中华肾脏病杂志*, 2016, 32(8): 561-567.

[17] LIN L, WANG W M, PAN X X, et al. Biomarkers to detect membranous nephropathy in Chinese patients[J]. *Onco-target*, 2016, 7(42): 67868-67879. (下转第 482 页)

- [23] LIU X J, ZHENG X P, ZHANG R, et al. Combinatorial effects of miR-20a and miR-29b on neuronal apoptosis induced by spinal cord injury[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(4): 3811-3818.
- [24] HU J Z, HUANG J H, ZENG L, et al. Anti-apoptotic effect of microRNA-21 after contusion spinal cord injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(15): 1349-1360.
- [25] HUANG J H, CAO Y, ZENG L, et al. Tetramethyl pyrazine enhances functional recovery after contusion spinal cord injury by modulation of MicroRNA-21, FasL, PDCD4 and PTEN expression[J]. *Brain Res*, 2016, 1648 (Pt A): 35-45.
- [26] ZHU H G, XIE R, LIU X D, et al. MicroRNA-494 improves functional recovery and inhibits apoptosis by modulating PTEN/AKT/mTOR pathway in rats after spinal cord injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017(92): 879-887.
- [27] LIU D, HUANG Y, JIA C, et al. Administration of antagonism-223 inhibits apoptosis, promotes angiogenesis and functional recovery in rats with spinal cord injury[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(4): 483-491.
- [28] BAK M, SILAHTAROGLU A, MOLLER M, et al. MicroRNA expression in the adult mouse central nervous system[J]. *RNA*, 2008, 14(3): 432-444.
- [29] BHALALA O G, SRIKANTH M, KESSLER J A. The emerging roles of microRNAs in CNS injuries[J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(6): 328-339.
- [30] YU Y M, GIBBS K M, DAVILA J, et al. MicroRNA miR-133b is essential for functional recovery after spinal cord injury in adult zebrafish[J]. *Eur J Neurosci*, 2011, 33(9): 1587-1597.
- [31] SUNG J K, MIAO L, CALVERT J W, et al. A possible role of RhoA/Rho-kinase in experimental spinal cord injury in rat[J]. *Brain Res*, 2003, 959(1): 29-38.
- [32] THEIS T, YOO M, PARK C S, et al. Lentiviral delivery of miR-133b improves functional recovery after spinal cord injury in mice[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(6): 4659-4671.
- [33] YI J, WANG D, NIU X, et al. MicroRNA-155 deficiency suppresses Th17 cell differentiation and improves locomotor recovery after spinal cord injury[J]. *Scand J Immunol*, 2015, 81(5): 284-290.
- [34] GAUDET A D, MANDREKAR-COLUCCI S, HALL J C, et al. miR-155 deletion in mice overcomes neuron-intrinsic and neuron-extrinsic barriers to spinal cord repair[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(32): 8516-8532.
- [35] OBERNOSTERER G, LEUSCHNER P J, ALENIUS M, et al. Post-transcriptional regulation of microRNA expression[J]. *RNA*, 2006, 12(7): 1161-1167.
- [36] BHALALA O G, PAN L, SAHNI V, et al. microRNA-21 regulates astrocytic response following spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(50): 17935-17947.
- [37] LIU R H, NING B. Interaction of mi R-21 and TGF- β /SMADs signaling pathway affects the formation of fibrotic scars after spinal cord injury[J]. *NRR*, 2015, 10(12): 1961.

(收稿日期: 2018-07-21 修回日期: 2018-10-01)

(上接第 478 页)

- [18] 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 Soci Nephrol*, 2017, 12(10): 1642-1651.
- [19] KUO M W, WANG C H, WU H C, et al. Soluble THSD7A is an N-Glycoprotein that promotes endothelial cell migration and tube formation in angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29000.
- [20] VIVARELLI M, EMMA F, PELLE T, 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.
- [21] RONCO P, DEBIEC H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care[J]. *Lancet*, 2015, 385(9981): 1983-1992.
- [22] 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.
- [23] GOEDEL M, GRAHAMMER F, HUBER T B. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1073.
- [24] TOMAS N M, HOXHA E, REINICKE A T, et al. Autoantibodies against thrombospondin type 1 domain-containing 7A induce membranous nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7): 2519-2532.
- [25] 程虹, 谌贻璞. 需尽快开展诊断特发性膜性肾病的两项检验[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(12): 873-875.
- [26] STAHL P R, HOXHA E, WIECH T, et al. THSD7A expression in human cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2017, 56(4): 314-327.
- [27] BECK J. Membranous nephropathy and malignancy[J]. *Semin Nephrol*, 2010, 30(6): 635-644.
- [28] HOXHA E, WIECH T, STAHL PR, et al. A mechanism for cancer-associated membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(20): 1995-1996.

(收稿日期: 2018-06-18 修回日期: 2018-09-25)