

I 型血小板反应蛋白 7A 域及其抗体在特发性膜性肾病中的研究进展

李珺 王艳艳 程虹

100029 北京,首都医科大学附属北京安贞医院肾内科

【摘要】 特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)是一类病因未明的自身免疫性肾小球疾病。目前研究显示,磷脂酶 A2 受体(phospholipase A2 receptor, PLA2R)和 I 型血小板反应蛋白 7A 域(thrombospondin type-1 domain-containing 7A, THSD7A)与 IMN 发病之间密切相关。目前血清抗 PLA2R 抗体检测与肾小球 PLA2R 抗原染色已可用于临床诊疗与预后判断,但对于 THSD7A 的相关检测尚未广泛用于临床。因此,本文将对目前 THSD7A 在 IMN 中的作用及研究进展作一综述。

【关键词】 特发性膜性肾病;I 型血小板反应蛋白 7A 域

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2019.08.015

The research progress of thrombospondin type-1 domain 7A and its antibodies in idiopathic membranous nephropathy LI Jun, WANG Yan-yan, CHENG Hong. Department of Nephrology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding Author: CHENG Hong, E-mail: drchengh@163.com

【Abstract】 Idiopathic membranous nephropathy(IMN) is an autoimmune glomerular disease with unknown etiology. Current studies have shown that phospholipase A2 receptor (PLA2R) and thrombospondin type-1 domain 7A (THSD7A) are closely related to the pathogenesis of IMN. At present, serum anti-PLA2R antibody detection and glomerular PLA2R antigen staining have been used for clinical diagnosis and prognosis, but the related detection of THSD7A has not been widely used in clinical practice. Therefore, this paper will review the current role and research progress of THSD7A in IMN.

【Key words】 Idiopathic membranous nephropathy; Thrombospondin type-1 domain 7A

特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)是成人原发性肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)最常见的病理类型之一,约占成人 NS 的 25%^[1]。其中 1/3 患者可自发缓解,1/3 患者表现为持续的 NS,剩余 1/3 患者将会进展为终末期肾病;另外,研究表明 IMN 患者肾移植后复发率为 30%~40%,5 年内复发率可高达 55%^[2-3]。我国一项多中心研究回顾性分析了 71 151 例肾穿刺病例,发现 IMN 占肾小球病的比例增长迅速,十年翻了一翻,从 2004 年的 12.2% 上升到 2014 年的 24.9%,目前 IMN 是仅次于 IgA 肾病的第二位常见肾小球病^[4]。我中心的资料同样表明 IMN 占原发性肾小球病的比例明显升高,由 2012~2013

年的 24.2% 上升至 2014~2015 年的 37.1%^[5]。由此可见,IMN 是一种非常值得重视、值得进一步研究的疾病。

IMN 的发病机制不清。1959 年 Heymann 肾炎大鼠模型的建立极大地提高了对 IMN 发病机制的认识。由此模型认识到 IMN 是自身免疫性肾小球病,meqlin 是存在于大鼠足细胞表面上的致病抗原,当循环抗体与足细胞表面 meqlin 结合后,即可在上皮下形成原位免疫复合物,激活补体,损害肾小球滤过屏障,促使蛋白尿产生^[6-7]。但遗憾的是 meqlin 并不在人类的足细胞上表达,这促使国内外学者不断去积极寻找人 IMN 的致病靶抗原^[8]。

近 10 年对于人类 IMN 致病抗原的研究取得了突破性

【作者简介】 李珺,女,硕士,研究方向:特发性膜性肾病的临床及病理特点,E-mail:lijun-327@163.com **【通信作者】** 程虹,女,博士,教授、主任医师、博士生导师,研究方向:原发和继发性肾小球疾病、肾小管间质疾病、肾血管疾病、急和慢性肾衰竭等病的诊治,E-mail:drchengh@163.com

的进展。2009 年 Beck 等^[9]发现肾小球足细胞上的磷脂酶 A2 受体(phospholipase A2 receptor, PLA2R)是 IMN 最主要的靶抗原。目前的研究表明 IMN 患者肾小球 PLA2R 阳性率为 53%~96%^[10-12],血清抗 PLA2R 抗体阳性率为 50%~96%^[9-12]。2014 年底 Tomas 等^[13]发现了足细胞 1 型血小板反应蛋白 7A 域(thrombospondin type-1 domain-containing 7A, THSD7A),IMN 另一重要靶抗原,也是目前肾脏病学界研究的热点。本文主要介绍 THSD7A 及其抗体在 IMN 中的研究进展。

一、THSD7A 及其抗体的发现

2014 年, Tomas 等^[13]发现 8%~14% 抗 PLA2R 抗体阴性 IMN 患者血清可识别一种分子量为 250 000Da 的肾小球抗原,而正常人及其他肾小球疾病患者血清不能识别该抗原。随后应用质谱分析技术发现该肾小球抗原为 THSD7A。进一步研究表明该血清也可识别基因重组的 THSD7A,且特异的抗 THSD7A 抗体可识别人肾小球提取物中的 THSD7A,这些研究均证实此抗原为 THSD7A。免疫荧光检查可观察到 THSD7A 在肾小球足细胞表达,利用免疫金电镜可进一步观察到 THSD7A 在足细胞的胞体、内吞小体和足突上均有表达^[14]。

与 PLA2R 结构相似, THSD7A 也为跨膜糖蛋白,含有较长的胞外段,一段跨膜结构域和细胞内短的 C 末端。细胞外段包含 11 个血小板反应蛋白-1 功能域,1 个富含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸的结构域^[13]。现已在 PLA2R 的细胞外段发现三个致病抗原表位,而 THSD7A 的致病抗原表位尚不明确^[15]。另外研究表明 PLA2R 只在人类足细胞表达,而 THSD7A 不仅在人足细胞表达也在啮齿类动物足细胞表达^[14]。所以,此抗原的发现为建立 IMN 的动物模型进一步研究人类 IMN 的发病机制带来了新的希望。

Tomas 等^[13]通过免疫印迹法发现,与血清抗 PLA2R 抗体一样,血清抗 THSD7A 抗体主要为 IgG4,但也有其他 IgG 亚类成分。同样,通过激光共聚焦发现, THSD7A 也与 IgG4 共同定位于肾小球毛细血管袢。另外,将血清抗 THSD7A 抗体阳性 IMN 患者的冰冻肾组织进行 IgG 洗脱,洗脱液中的 IgG 也可识别重组的 THSD7A。

二、THSD7A 在 IMN 发病机制中的作用

Tomas 等^[16]报道了 1 例 IMN 患者,该患者在接受肾移植时血清抗 THSD7A 抗体阳性,肾脏移植后尿蛋白减少,肾功能恢复正常。10 个月后再次出现大量蛋白尿,移植肾组织活检示 IMN,血清抗 THSD7A 抗体仍为阳性,提示持续存在于循环中的抗 THSD7A 抗体导致了移植肾 IMN 复发。体内实验表明将含抗 THSD7A 抗体的人血清注射 BALB/c 小鼠,可诱导小鼠产生蛋白尿,肾组织病理可见到 IgG 和 THSD7A 呈颗粒状沿肾小球毛细血管壁沉积,呈强阳性,并可见到补体 C3 沉积,电镜下可观察到上皮电子致密物沉积和部分足细胞足突变宽、融合,与人 IMN 的临床及病理表现非常相似^[16]。体外研究表明抗 THSD7A 抗体可与小鼠原代足细胞结合,并引起小鼠原代足细胞骨架重排和局部粘

附信号活化,损伤足细胞^[16]。这些研究均表明抗 THSD7A 抗体在 IMN 发生过程中可能具有直接致病作用。但是由于仅有 1.4%~5.0% IMN 患者抗 THSD7A 抗体呈阳性,所以难以应用人抗 THSD7A 抗体血清进行更多的系统研究^[17]。

最近 Tomas 等^[17]报道了一种由重组抗 THSD7A 抗体诱导的小鼠 IMN 模型,即将编码人和小鼠 THSD7A 全长基因的表达质粒和金颗粒结合,联合免疫(coimmunization)免,得到免抗人和小鼠的抗 THSD7A 抗体。然后将此抗体注射到 BALB/c 小鼠体内,14 d 后小鼠出现 NS,肾组织病理可见 IgG 和 THSD7A 在肾小球沉积,出现典型的 IMN 改变。但是在此模型中未观察到补体 C3 沉积及补体活化。而且此模型存在显著种系差异,将人和小鼠抗 THSD7A 抗体注射到其他啮齿类动物(C57BL/6 小鼠、DBA/J1 小鼠、SD 大鼠)均未能成功造模。上述研究表明血清抗 THSD7A 抗体参与 IMN 的发病过程,但具体致病机制仍需深入研究。

三、肾小球 THSD7A 及血清抗 THSD7A 抗体检测对诊断 IMN 的意义

近年研究表明欧美国家 IMN 患者肾小球 THSD7A 及血清抗 THSD7A 抗体阳性率分别为 2.4%~3.5%^[18-19]及 3.1%~5%^[13,15];对于 PLA2R 阴性 IMN 患者肾小球 THSD7A 及血清抗 THSD7A 抗体阳性率分别为 6.1%^[18]及 4.5%~9.7%^[13,20]。日本 IMN 患者肾小球 THSD7A 阳性率高达 9.1%,对于 PLA2R 阴性 IMN 患者肾小球 THSD7A 阳性率为 19.2%^[21]。国内北京大学第一医院的研究表明 IMN 患者血清抗 THSD7A 抗体阳性率为 1.4%,对于血清抗 PLA2R 抗体阴性的 IMN 患者阳性率为 9.4%^[22]。南京军区总医院的研究显示对于肾组织 PLA2R 及血清抗 PLA2R 均阴性 IMN 患者肾小球 THSD7A 阳性率为 7.5%^[23]。上述研究结果差异较大,可能与所采用的实验方法不同及可能存在种族的差异相关,需进一步观察。

目前常用免疫印迹法及间接免疫荧光法检测血清抗 THSD7A 抗体。Hoxha 等^[20]采用上述两种方法对 1 276 例 IMN 患者血清抗 THSD7A 抗体进行了检测。结果表明,应用免疫印迹法可检测到 39 例血清抗 THSD7A 抗体阳性患者,而应用间接免疫荧光法仅检测到 36 例抗体阳性患者。与免疫印迹法相比,间接免疫荧光法的敏感度为 92%,特异度为 100%。该研究还对 18 例血清抗 THSD7A 抗体阳性患者的肾组织进行 THSD7A 染色,均呈阳性。另外还有 1 例患者血清抗 THSD7A 抗体阴性,而组织 THSD7A 染色阳性^[20]。国内北京大学第一医院对 64 例肾组织 PLA2R 及血清抗 PLA2R 抗体均阴性的患者进行肾组织免疫组织化学染色,10 例患者肾小球 THSD7A 显著沉积,其中 6 例患者血清抗 THSD7A 抗体也为阳性,剩余 4 例患者仅有肾小球 THSD7A 阳性而血清抗 THSD7A 抗体阴性^[22]。提示检测肾组织 THSD7A 沉积较检测血清抗 THSD7A 抗体更敏感。

现已知血清抗 PLA2R 抗体滴度与 IMN 患者病情活动及疾病转归相关^[9,24]。那么血清抗 THSD7A 抗体水平是否

也能反映 IMN 病情呢? Tomas 等^[13]对 3 例 IMN 患者的血清抗 THSD7A 抗体水平与尿蛋白水平进行分析,发现血清抗 THSD7A 抗体水平与尿蛋白水平同步变化,血清抗 THSD7A 抗体水平高时尿蛋白水平高,血清抗体水平下降时尿蛋白水平也同步下降。认为血清抗 THSD7A 抗体水平可能与疾病活动相关。而 Hoxha 等^[20]的研究表明 IMN 患者血清抗 THSD7A 水平与尿蛋白水平不相关。该研究随后还对 11 例患者进行了至少 12 个月(中位随访时间 36 个月)的随访,其中 4 例患者完全缓解,血清抗 THSD7A 抗体也转为阴性;5 例部分缓解的患者中 1 例血清抗 THSD7A 抗体转阴,其余 4 例血清抗 THSD7A 抗体仍为阳性。1 例患者尿蛋白无缓解,血清抗 THSD7A 抗体持续阳性。Sharma 等^[19]采用间接免疫荧光法对 IMN 患者血清抗 THSD7A 抗体进行检测,据血清抗 THSD7A 抗体水平将 IMN 患者分为低滴度组(1:10, $n=10$)、中滴度组(1:100, $n=11$)及高滴度组(1:500, $n=3$),其平均尿蛋白水平分别为 10.1 g、10.5 g、9.2 g。他们认为血清抗 THSD7A 抗体水平与疾病活动不相关,且不能用于预测疾病缓解及治疗反应。但上述研究样本量均较小,尚不能明确血清抗 THSD7A 抗体水平与疾病活动的关系,需扩大样本量,进行多中心研究。

近年在研究 THSD7A 相关 IMN[肾小球 THSD7A 染色阳性和(或)血清抗 THSD7A 抗体阳性的 IMN]的过程中,发现个别患者肾小球 PLA2R 和 THSD7A 阳性,且其血清对应抗体也为阳性,呈双重阳性^[18,22]。2016 年 Larsen 等^[18]首次报道了 2 例双重阳性的患者。随后国内学者也报道了两例双重阳性的患者,均为男性,年龄分别为 65 岁和 48 岁,均表现为 NS,均予 ACEI/ARBs 治疗,1 例治疗 3 个月完全缓解,随访 40 个月无复发,另 1 例仅随访 3 个月,未缓解^[22]。对于这种双重阳性的现象,Larsen 等^[18]认为血清抗 PLA2R 抗体及抗 THSD7A 抗体 2 种自身抗体不是相互排斥的,但目前尚不明确他们是否均参与了疾病的致病过程,需进一步研究其潜在病因。推测在发病过程中足细胞抗原暴露后,其中一种自身抗体“机会性”产生;另一方面,目前已知 IMN 具有遗传易感性,HLA-DQA1 基因与其密切相关^[25]。推测某些患者的自身免疫系统更易于产生针对足细胞抗原的自身抗体,2 种抗体均可致病。国内的研究表明 2 种自身抗体之间无交叉反应,提示 2 种抗体均激活了 B 细胞;另外通过共聚焦显微镜观察到 THSD7A 和 PLA2R 均沿毛细血管壁呈细颗粒状沉积,提示两种抗原均参与了免疫复合物的形成^[22]。目前双重阳性患者数极少,其发病机制及临床意义仍需深入研究。

四、THSD7A 相关 IMN 的临床表现

由于 IMN 患者 THSD7A 阳性率较低,文献报道的 THSD7A 相关 IMN 患者例数较少,所以目前对其特异的临床表现尚不清楚。2016 年 Hoxha 等^[20]的一项多中心研究汇总了 40 例 THSD7A 相关 IMN(血清抗 THSD7A 抗体阳性,未检测肾小球 THSD7A),是目前样本量最大的研究。该研究表明 THSD7A 相关 IMN 女性多于男性(23:17),平

均年龄 60.5 岁,平均尿蛋白定量 6.7 g/d。2017 年 Sharma 等^[19]报道了 31 例 THSD7A 相关 IMN(肾小球 THSD7A 阳性,其中 24 例有血清标本的患者血清 THSD7A 抗体阳性),是目前单中心样本量最大的研究。还有国内北京大学第一医院也报道了 12 例 THSD7A 相关 IMN(肾小球 THSD7A 全部阳性,其中 8 例血清抗 THSD7A 抗体阳性)。这两项研究中 THSD7A 相关 IMN 患者的年龄及尿蛋白定量水平均与 Wang 等^[22]的研究类似。另外,Hoxha 等^[20]报道 THSD7A 相关 MN 患者女性占优势,Sharma 等^[19]则发现 THSD7A 相关 IMN 患者男性多于女性(19:12)。但这些研究样本量均较小,尚难判断 THSD7A 相关 IMN 是否存在性别差异。

另外,研究表明 THSD7A 相关 IMN 可能与肿瘤相关。Hoxha 等^[26]报道了 1 例 THSD7A 相关 IMN 患者。该患者为 40 岁女性,同时患有胆囊癌,免疫组化显示其胆囊肿瘤及相应肿瘤转移的淋巴结 THSD7A 阳性,且 THSD7A mRNA 仅可在其胆囊肿瘤组织中检测到,而不能在其正常的胆囊组织中检测到。经化疗后该患者血清抗 THSD7A 抗体转阴,尿蛋白由 5.0 g/g 下降至 0.7 g/g。此外,该研究对 1 009 例 IMN 患者的血清进行检测,25 例患者血清抗 THSD7A 抗体阳性,其中 7 例患恶性肿瘤。该现象提示,THSD7A 与肿瘤之间可能存在一定关系。如前所述,Hoxha 等^[20]汇总了 40 例 THSD7A 相关 IMN 患者,其中 8 例患者在诊断 IMN 3 个月内发现恶性肿瘤。Sharma 等^[19]在其所报道的 31 例 THSD7A 相关 IMN 患者中,也发现 2 例恶性肿瘤患者,其肿瘤组织 THSD7A 免疫组化染色均阳性,且其血清抗 THSD7A 抗体水平与恶性肿瘤治疗情况相关。Hoxha 等^[20]认为恶性肿瘤与 IMN 之间存在一种潜在的致病机制,即免疫系统将肿瘤组织中的 THSD7A 作为一种外来抗原,而产生高亲和性抗体,可与肾小球足细胞 THSD7A 结合形成上皮原位免疫复合物,导致 IMN 发生。但是在其他 THSD7A 相关 IMN 的研究中并未发现恶性肿瘤发生,可能与种族差异,也可能与样本量小及随访时间短相关。值得注意的是,近期 Stahl 等^[27]利用组织微阵列(tissue microarray)技术对 70 多种肿瘤的 20 000 余个组织位点进行检测,发现 THSD7A 可在多种肿瘤组织表达,THSD7A 可能参与肿瘤的浸润、转移和血管生成。因此,建议对于 THSD7A 相关 IMN 患者密切筛查肿瘤,尤其是在第一年随访期间^[22]。

五、展望

综上所述,THSD7A 的发现为建立 IMN 的动物模型,进一步研究人类 IMN 的发病机制带来了新希望。肾组织 THSD7A 及血清抗 THSD7A 抗体的检测对于诊断 IMN 也具有重要意义。但 THSD7A 在 IMN 患者中的阳性率较低,其临床意义尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Skorecki K, Chertow GM, Marsden PA, et al. Brenner and rector's the kidney[M]. USA: Elsevier, 2015: 1012-1090.

- [2] Seitz-Polski B, Lambeau G, Esnault V. Membranous nephropathy: Pathophysiology and natural history[J]. *Nephrol Ther*, 2017, S1: S75-S81.
- [3] Yamamoto I, Yamakawa T, Katsuma A, et al. Recurrence of native kidney disease after kidney transplantation[J]. *Nephrology(Carlton)*, 2018, 23(Suppl 2): 27-20.
- [4] 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.
- [5] 王艳艳, 董鸿瑞, 孙丽君, 等. 青年人特发性膜性肾病临床及病理特点分析[J]. *中国实用内科杂志*, 2017, 37(6): 544-548.
- [6] 湛贻璞主编. 肾内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 39-48.
- [7] Borza DB, Zhang JJ, Beck LH Jr, et al. Mouse models of membranous nephropathy: the road less travelled by[J]. *Am J Clin Exp Immunol*, 2013, 2(2): 135-145.
- [8] Sinico RA, Mezzina N, Trezzi B, et al. Immunology of membranous nephropathy: From animal models to humans [J]. *Clin Exp Immunol*, 2016, 183(2):157-165.
- [9] Beck LH Jr, 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.
- [10] Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(7): 689-690.
- [11] Hihara K, Iyoda M, Tachibana S, et al. Anti-phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody and glomerular PLA2R expression in Japanese patients with membranous nephropathy [J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0158154.
- [12] 韩丹诺, 湛贻璞, 王艳艳, 等. 膜性肾病患者血清磷脂酶 A2 受体抗体的临床意义[J]. *中国实用内科杂志*, 2015, 35(4): 351-354.
- [13] Tomas NM, Beck LH Jr, 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.
- [14] Meyer-Schwesinger C, Lambeau G, Stahl RA. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1074-1075.
- [15] Beck LH Jr. PLA2R and THSD7A: Disparate Paths to the Same Disease? [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(9): 2579-2589.
- [16] 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.
- [17] Tomas NM, Meyer-Schwesinger C, von Spiegel H, et al. A Heterologous Model of Thrombospondin Type 1 Domain-Containing 7A-Associated Membranous Nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(11): 3262-3277.
- [18] Larsen CP, Cossey LN, Beck LH. THSD7A staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity[J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(4): 421-426.
- [19] 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.
- [20] Hoxha E, Beck LH Jr, 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.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] Qin HZ, Zhang MC, Le WB, et al. Combined assessment of phospholipase A2 receptor autoantibodies and glomerular deposits in membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(10): 3195-3203.
- [24] 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.
- [25] Saeed M, Beggs ML, Walker PD, et al. PLA2R-associated membranous glomerulopathy is modulated by common variants in PLA2R1 and HLA-DQA1 genes[J]. *Genes Immun*, 2014, 15(8): 556-561.
- [26] 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.
- [27] Stahl PR, Hoxha E, Wiech T, et al. THSD7A expression in human cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2017, 56(4): 314-327.

(收稿日期:2018-09-13)