

• 论 著 •

# ELISA 检测血清抗磷脂酶 A<sub>2</sub> 受体抗体在膜性肾病中的应用探讨\*

方 玲, 顾向明, 周泽红, 林森雄, 齐晓云  
(广州中医药大学附属中山医院检验科 528400)

**摘 要:**目的 探讨酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清抗磷脂酶 A<sub>2</sub> 受体抗体(抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体)滴度在膜性肾病中的应用价值为疾病诊断及病情判断提供更特异的血清学指标。方法 选取该院肾内科就诊行肾组织活检并确诊的膜性肾病患者 34 例, 该院住院自身免疫性疾病及肾病综合征、肾功能不全患者 32 例, 健康体检者 12 例, 收集血清检测抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体并结合血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、IgG、IgA、IgM、C3、C4 指标, 分析其对膜性肾病的诊断性能。结果 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度在膜性肾病组、疾病对照组、健康对照组中位数依次为 22.1、2.0、2.0 RU/mL, 膜性肾病组与其他两组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体在膜性肾病组阳性 17 例(阳性率 50%), 阴性 17 例, 疾病对照组及健康对照组均为阴性, 其特异度与阳性预测值为 100%。膜性肾病组 TP、ALB、IgG 与疾病对照组、健康对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体与血清 TP、ALB、IgG、IgA、IgM、C3、C4 的相关系数依次为 -0.382、-0.344、-0.502、-0.295、0.062、0.005、0.241, 与 TP、ALB、IgG、IgA 呈负相关( $P<0.01$ ), 与 C4 呈正相关( $P<0.05$ ), 与 IgM、C3 无相关性( $P>0.05$ )。结论 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体在膜性肾病诊断中具有较高的特异性, 可作为无法行肾活检患者的必要和特异性血清学检测指标, 定量检测有助于病情判断。

**关键词:**膜性肾病; 磷脂酶 A<sub>2</sub>; 酶联免疫吸附试验  
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.007 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)04-0450-03

**Study on application of serum anti-phospholipase A<sub>2</sub> receptor antibodies detection by ELISA in membranous nephropathy\***  
FANG Ling, GU Xiangming, ZHOU Zehong, LIN Miaoxiong, QI Xiaoyun  
(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Zhongshan Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

**Abstract:** Objective To explore the titre of serum anti-phospholipase A<sub>2</sub> receptor antibodies (anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies) detected by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to provide a more specific serological index for clinical diagnosis and disease judgment of membranous nephropathy (MN). Methods Thirty-four cases of MN confirmed by kidney biopsy, 32 inpatients with autoimmune diseases, nephrotic syndrome and renal insufficiency in the nephrology department of our hospital and 12 persons undergoing physical examination were selected. The serum was collected for detecting anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies level. Then its diagnostic performance for diagnosing MN was analyzed by combining with serum TP, ALB, IgG, IgA, IgM, C3 and C4 indicators. Results The medians of anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies titres in the MN group, disease control group and healthy control group were 22.1, 2.0, 2.0 RU/mL respectively, which had statistical difference between the MN group and other two groups ( $P<0.05$ ). Seventeen cases of anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies positive were in the MN group (positive rate 50%) and 17 cases were negative, the disease control group and healthy control group all were negative. Its specificity and positive predictive value were 100%, TP, ALB and IgG had statistical difference between the MN group with the disease control group and healthy control group ( $P<0.05$ ); the relative coefficients of anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies with TP, ALB and IgG, IgA, IgM, C3 and C4 were in turn -0.382, -0.344, -0.502, -0.295, 0.062, 0.005 and 0.241 respectively, anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies were negatively correlated with TP, ALB, IgG and IgA ( $P<0.01$ ), positively correlated with C4 ( $P<0.05$ ) and had no relation with IgM and C3 ( $P>0.05$ ). Conclusion Anti-PLA<sub>2</sub>R antibodies have higher specificity for the diagnosis of MN and can serve as the necessary and specific serologic detection indicator in the patients unable to conduct renal biopsy. Quantitative detection helps to condition judgment.

**Key words:** membranous nephropathy; phospholipase A<sub>2</sub>; enzyme-linked immunosorbent assay

膜性肾病多以肾病综合征为主要症状, 因病情反复迁延, 部分患者会发展至慢性肾功能衰竭, 而危及患者生命。膜性肾病为病理诊断名词, 是肾小球肾炎的一种, 可分为特发性膜性肾病(IMN)和继发性膜性肾病(SMN)两类, 其诊断主要依靠肾组织活检, 有部分患者无法行肾活检导致诊断困难从而延误治疗。近年来有研究报道血清抗磷脂酶 A<sub>2</sub> 受体抗体(抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体)与 IMN 发病密切相关, 可用于疾病诊断、病情监测及疗效及预后判断<sup>[1-4]</sup>。本文运用酶联免疫吸附试验

(ELISA)检测膜性肾病患者血清抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度, 并结合血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、IgG、IgA、IgM、C3、C4 等指标, 分析抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体与上述指标在膜性肾病中的相互关系及诊断性能, 探讨其与上述生化指标对膜性肾病病情监测价值, 为膜性肾病的辅助诊断提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2015 年 4 月至 2016 年 6 月本院肾内科肾活检病理明确诊断为膜性肾病患者 34 例(膜性肾病组), 其

\* 基金项目: 广东省中山市科学技术基金项目(2015B1214)。  
作者简介: 方玲, 女, 副主任技师, 主要从事临床免疫检验工作研究。

中男 24 例,女 10 例,年龄 19~68 岁,平均(47±13)岁。疾病对照组 32 例,为系统性红斑狼疮、干燥综合征、肾病综合征、肾功能不全等患者,男 12 例,女 20 例,年龄 8~84 岁,平均(48±20)岁。另选取同期来本院体检健康者 12 例作为健康对照组,男 6 例,女 6 例,年龄 25~53 岁,平均(46±8)岁。

**1.2 仪器与试剂** 日立 7600-120DPP 模块式全自动生化分析仪。抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体 IgG 检测试剂盒(ELISA 法,批号: E151021AY,生产厂家为德国欧蒙医学实验诊断股份有限公司,在试剂有效期内进行检测)。TP、ALB 应用比色法检测,试剂生产厂家为四川迈克生物科技股份有限公司。IgG、IgA、IgM、C3、C4 检测应用免疫透射比浊法,试剂生产厂家为上海景源医疗器械有限公司,项目参数按试剂说明书进行设置。

**1.3 方法** 收集受试对象空腹静脉血 4 mL,3 500 r/min 离心 8 min,生化项目检测后收集血清保存于-20 ℃冰箱备用。复融后统一检测抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体。抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体采用五点定标进行定量检测,试剂说明书推荐 14 RU/mL 为阳性界值。TP、ALB、IgG、IgA、IgM、C3、C4 参考区间依次为 65~85、40~55、8.0~16.0、0.7~3.3、0.5~2.2、0.8~1.6、0.1~0.4 g/L。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计量资料正态分布以  $\bar{x} \pm s$  表示,非正态分布以中位数表示,不同组间比较方差齐性采用 *t* 检验,方差不齐采用秩合检验。血清抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体对膜性肾病诊断性能以肾活检病理结果为诊断金标准进行分析统计。抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体与其他血清学指标相关性分析采用双变量相关分析。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 各组抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度比较** 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度在膜性肾病组、疾病对照组、健康对照组中位数依次为 22.1、2.0、2.0 RU/mL,膜性肾病组与其他组间比较差异有统计学意义( $\chi^2=27.564, P=0.000<0.05$ )。

**2.2 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体对膜性肾病诊断性能评价** 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体在膜性肾病组阳性 17 例,阴性 17 例,阳性率为 50%,疾病对照组及健康对照组均为阴性。以肾活检病理结果为诊断金标准,抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体对膜性肾病诊断性能敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断效率分别为 50%(17/34),100%(44/44),100%(17/17),72.1%(44/61),78.2%(61/78)。

**2.3 各组间生化免疫指标检测情况** 见表 1。

表 1 膜性肾病各组间生化免疫相关指标比较(g/L)

| 项目  | 膜性肾病组<br>(n=34) | 疾病对照组<br>(n=32) | 健康对照组<br>(n=12) |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|
| TP  | 50.10±7.60*     | 61.40±13.90     | 77.00±3.80      |
| ALB | 25.70±6.30*     | 33.20±11.30     | 47.20±2.30      |
| IgG | 6.49±4.00*      | 10.27±5.29      | 13.47±1.67      |
| IgA | 2.09±1.30       | 2.87±1.87       | 2.75±1.90       |
| IgM | 1.51±0.86       | 1.21±0.89       | 1.00±0.45       |
| C3  | 0.88±0.23       | 1.00±0.44       | 0.96±0.12       |
| C4  | 0.28±0.08       | 0.27±0.09       | 0.23±0.05       |

注:与其他组比较,\**P*<0.05。

**2.4 相关性分析** 抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体与血清 TP、ALB、IgG、IgA、IgM、C3、C4 的相关系数依次为-0.382,-0.344,-0.502,-0.295,0.062,0.005,0.241,其 *P* 值依次为 0.001,0.002,0.00,0.009,0.593,0.966,0.034。抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体与 TP、ALB、IgG、IgA 呈负相关(*P*<0.01),与 C4 呈正相关(*P*<0.05),与 IgM、C3 无相关性(*P*>0.05)。

3 讨 论

膜性肾病一直以来缺乏特异性血清学指标,其诊断主要依靠肾组织活检。近年来,国内外有研究陆续报道抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体与膜性肾病,尤其是特发性膜性肾病发病相关,同时也是其诊断、疾病活动性判断和治疗监测的重要指标<sup>[1-5]</sup>。

抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体在膜性肾病组中滴度、阳性率高,与健康对照组比较差异有统计学意义(*P*<0.05),其诊断性能中特异度及阳性预测值可达 100%,血清只要检测到阳性,则为真阳性,也进一步证明抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体在膜性肾病的诊断中是一非常有特异性的血清学指标;尤其适用于部分患者对有创性的肾组织活检存在一定风险时,此血清学指标阳性能为膜性肾病尤其是 IMN 的诊断提供有力依据。

本研究检测结果与其他相关报道比较,抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体阳性率稍低,分析原因主要与病例的收集有关:(1)膜性肾病患者入院时期不同,其抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度有明显波动,部分患者经过治疗后转为阴性;(2)有部分患者可能处于疾病缓解期;(3)有部分患者进行治疗后导致检测结果阴性;(4)有部分患者存在其他特异性抗体。

研究结果还显示,抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度与血清 TP、ALB 呈高度负相关,这与其他文献报道结果一致<sup>[6-8]</sup>。抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度与免疫球蛋白及补体成分相关性未见研究报道,抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度与 IgG、IgA 呈高度负相关,与 C4 有一定正相关,与 IgM、C3 不相关,可能的原因与抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体对各项免疫指标本身的免疫耗损有联系。膜性肾病组 TP 小于 40 g/L 的有 25 例,其抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体为阳性有 15 例(滴度大于 100 RU/mL 有 11 例),ALB 小于 25 g/L 的有 16 例,其抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体阳性可达 12 例(滴度大于 100 RU/mL 有 6 例),说明此抗体滴度及阳性率随病情加重有递增趋势,抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度值可用于病情的监测与疗效的判断。有研究报道抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度与患者尿蛋白量呈高度正相关,因尿蛋白检测准确性受多种因素影响,其结果波动较大,血清学指标因较恒定更有优势。

抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体的检测目前有 4 种方法,分别为免疫印迹法、间接免疫荧光法(IFA)、ELISA、激光免疫磁珠分析<sup>[9]</sup>,可用于临床的有证产品目前仅 2 种:IFA、ELISA。ELISA 的优势为既可定量又可定性,结果不受主观因素影响,不需特殊仪器(如荧光显微镜),尤其适用于标本量较大的实验室。

另外,膜性肾病组中有 3 例为糖尿病合并膜性肾病,其抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体滴度也明显升高,可能部分 SMN 患者存在特发性与继发性因素相叠加的情况从而导致诊断困难。林伟锋等<sup>[10]</sup>报道的特殊病例组也出现部分抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体阳性。因 IMN 及 SMN 在治疗策略上是不同的,成为困扰临床诊疗并急需解决的问题,有待更多学者作进一步的研究。

总之,目前临床开展血清学检测抗 PLA<sub>2</sub>R 抗(下转第 454 页)

缺失,过高时则通过增强细胞的修复功能造成了肿瘤细胞的抗药性<sup>[8]</sup>。研究发现 PARP 表达过高均可导致肿瘤耐药<sup>[9]</sup>。本组病例中,化疗敏感组的 P53、Livin 和 PARP 的阳性率显著低于化疗耐药组,同时 3 年、5 年生存率明显高于化疗耐药组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与上述观点相一致。将年龄、病理分化程度、临床分期、化疗敏感程度引入 Cox 回归模型,结果显示,临床分期、化疗敏感程度对生存时间有显著影响,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),是影响临床预后的重要因素,提示虽然卵巢癌的预后受到多种因素的影响,但在众多因素的相互作用中某一因素会被弱化<sup>[10]</sup>。而临床分期与化疗敏感程度却是明确的可影响卵巢癌预后的独立因素,提示疾病的早期诊断、早期治疗是提高卵巢癌生存率的极为重要的因素。

综上所述,P53、Livin 和 PARP 的表达均与上皮性卵巢癌患者的化疗耐药性相关,因此可用来预测患者的化疗疗效,对于耐药基因高表达的患者,可给予个性化的应对方案,以减少化疗伤害,提高患者的生存率。

参考文献

[1] 李淑青,陈亚萍. 卵巢癌对顺铂和紫杉醇耐药的分子机制[J]. 国际妇产科学杂志,2016,30(2):145-150.

[2] 韦露薇,李力. 上皮性卵巢癌多药耐药相关信号传导通路及其靶向药物研究进展[J]. 中国肿瘤临床,2016,38(9):396-399.

[3] Aarenstrup K, Høgdall C, Nedergaard L, et al. HE4 as a predictor of adjuvant chemotherapy resistance and survival in patients with epithelial ovarian cancer[J]. APMIS, 2016,124(12):1038-1045.

[4] 齐新颖. LRP、GST- $\pi$  表达与上皮性卵巢癌铂类化疗耐药及预后的关系[D]. 石家庄:河北医科大学,2015.

(上接第 451 页)

体的技术已日渐成熟,对于不具备肾脏病理诊断的医院,血清学检测抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体无疑更有利于临床诊断膜性肾病,如抗 PLA<sub>2</sub>R 抗体阳性,则不必行肾组织活检,也可减轻患者经济负担;如阴性再建议患者行有创的肾脏检查以明确病因。对于行肾组织活检有风险的患者则获益更多。定量检测不仅可用于诊断,同时可用于病情监测与疗效判断。

参考文献

[1] Beck LJ, 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.

[2] Hoxha E, Harendza S, Zahner G, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A<sub>2</sub>-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(8):2526-2532.

[3] 刘琳,陈丽萌,李学旺. 特发性膜性肾病与 M 型磷脂酶 A2 受体的研究进展[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(9):792-794.

[4] 牛广华,高玉洁,王柏山,等. 磷脂酶 A2 受体抗体在特发

[5] Wang Y, Li M, Meng F, et al. HPIP expression predicts chemoresistance and poor clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Hum Pathol, 2006, 27(16):30286.

[6] Xu CX, Xu M, Tan L, et al. MicroRNA MiR-214 regulates ovarian cancer cell stemness by targeting p53/Nanog[J]. J Biol Chem, 2016, 291(43):22851.

[7] Mangerich A, Biirle A. How to kill tumor cells with inhibitors of poly (ADP-ribosyl) ation[J]. Int J Cancer, 2011, 128(2):251-265.

[8] 周莹莹,王敏,吴建磊,等. 耐药及敏感卵巢癌组织与细胞系中 microRNA 的表达及意义[J]. 肿瘤学杂志,2014,37(3):197-202.

[9] Liu X, Wang A, Gao H, et al. Expression and role of the inhibitor of apoptosis protein livin in chemotherapy sensitivity of ovarian carcinoma [J]. Int J Oncol, 2012, 41(3):1021-1028.

[10] Zanjirband M, Edmondson RJ, Lunec J. Pre-clinical efficacy and synergistic potential of the MDM2-p53 antagonists, Nutlin-3 and RG7388, as single agents and in combined treatment with cisplatin in ovarian cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(26):40115-40134.

(收稿日期:2016-10-23 修回日期:2016-12-14)



性膜性肾病中的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(9):595-599.

[5] 杨雪芬,潘阳彬,丁国华,等. 成人特发性膜性肾病与分泌型磷脂酶 A2-IB 及抗磷脂酶 A2 受体抗体的相关性研究[J]. 中国全科医学,2015,18(9):1018-1022.

[6] 周广宇,孙延霞,周立祥,等. 特发性膜性肾病与 M 型磷脂酶 A2 受体基因多态性的相关性[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(1):1-5.

[7] 曹鹏龙,李士军,王柏山,等. 血清抗 M 型磷脂酶 A2 受体抗体与成人特发性膜性肾病的相关性[J]. 实用医学杂志,2014,30(15):2441-2444.

[8] 朱涛,赵涌,彭梦乐,等. 特发性膜性肾病患者血清抗 PLA2R 抗体表达研究[J]. 现代检验医学杂志,2016,31(3):4-6.

[9] 林力,陈楠. 磷脂酶 A2 受体抗体在膜性肾病临床诊治中的新进展[J]. 中华肾脏病杂志,2015,31(8):632-635.

[10] 林伟锋,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.

(收稿日期:2016-10-21 修回日期:2016-12-12)