

• 论 著 •

ELISA 检测抗 PLA2R 抗体对 IMN 诊断价值的 meta 分析*

金美丽,任 蕾,牟风云,王育文,刘彦虹[△]

(哈尔滨医科大学附属第二医院检验科,哈尔滨 150086)

摘要:目的 探讨酶联免疫吸附法(ELISA)检测抗磷脂酶 A2 受体抗体(anti-PLA2R)在特发性膜性肾病的中的诊断价值。方法 检索 Medline、PubMed、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、万方及维普数据库中 2012 年 1 月至 2017 年 4 月国内及国外公开发表的 ELISA 法测 anti-PLA2R 在特发性膜性肾病的中的诊断价值的相关文献。使用质量评估方法(QUADAS)评价文献质量。根据纳入标准和排除标准选取研究对象并提取数据,通过 Meta-Disc1.4 软件进行分析。最后得出总的敏感度、特异度及受试者工作曲线(ROC)综合评价 ELISA 法测 anti-PLA2R 对 IMN 的诊断价值。结果 共筛选出 10 篇文献。累计病例 1 517 例。合并敏感度为 0.68[95%CI(0.64,0.70)];合并特异度为 0.92[95%CI(0.90,0.95)],ROC 曲线显示曲线下面积(AUC)为 0.807 4。结论 ELISA 法检测 anti-PLA2R 对特发性膜性肾病诊断效能良好,可作为特发性膜性肾病诊断的有效补充指标。

关键词:抗 PLA2R 抗体; ELISA; 特发性膜性肾病; Meta 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.026

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)24-3429-04

The diagnostic value of ELISA detection of anti phospholipase A2 receptor antibody in idiopathic membranous nephropathy patients: a meta-analysis*

JIN Meili, REN Lei, MU Fengyun, WANG Yuwen, LIU Yanhong[△]

(Department of clinical laboratory, The 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang, Harbin 150086, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of Enzymes linked immunosorbent assay(ELISA) detection of anti phospholipase A2 receptor antibody(anti-PLA2R) in idiopathic membranous nephropathy patients. Methods All articles published from January 2012 to April 2017 about ELISA test on anti phospholipase A2 receptor antibody as a maker for IMN were collected, and the quality of the studies was evaluated by using the guidelines of the updated Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies(QUADAS-2) tool. According to the inclusion criteria and exclusion criteria, the research objects were selected and the data were extracted, and the analysis was carried out by Meta-Disc1.4 software. The results are summarized on the basis of sensitivity, specificity, and summary receiver operating characteristic curve(ROC curve). Results Ten articles were selected according to inclusion criteria and 1517 cases were included in the study. The combined sensitivity was 0.68 [95%CI(0.64,0.70)]; the merge specificity was 0.92 [95%CI(0.90,0.95)], and the subjects' working curve showed AUC 0.807 4. Conclusion The detection of anti-PLA2R by ELISA is effective in the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy, which can be used as an effective supplement for the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy.

Key words: anti phospholipase A2 receptor antibody; ELISA; idiopathic membranous nephropathy; meta analysis

特发性膜性肾病(IMN)是成人肾病综合征最常见的病理表现之一,IMN 主要累及肾小球基底膜,以免免疫复合物沉积而导致基底膜弥漫性增厚为特征,发病人群以中老年为主,临床上以肾病综合征或无症状蛋白尿为主要的临床表现^[1-2]。磷脂酶 A2 受体(PLA2R)为相对分子质量为(180~200)×10³ 的肾小球蛋白,主要表达于肾小球基底膜足细胞,其结构包括 N 末端富含胱氨酸区域(CysR)、II 型纤连蛋白区域(Fn II)、8 个 C 型凝集素区域(CTLD1)以及跨膜区域和细胞内的 C 末端。研究显示该蛋白空间构象的改变可使机体产生抗 PLA2R 抗体,使其与肾小球基底膜上的靶抗原相结合形成免疫复合物,是引起膜性肾病的主要特异性抗原之一^[3-5]。因此抗 PLA2R 抗体现已成为国内外研究的热点,其检测方法有免疫印迹法、间接免疫荧光法、激光小珠免疫测定法、ELISA 法等,故其存在一定的异质性。本文旨在利用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清抗 PLA2R 抗体,分析其诊断膜性肾病的敏感度和特异

度,为 IMN 的无创性诊断提供有力证据。

1 资料与方法

1.1 文献纳入与排除标准 纳入同时符合以下条件的文献:(1)研究目的为评价抗 PLA2R 抗体对膜性肾病的临床诊断价值;(2)研究以肾脏穿刺病理学诊断膜性肾病为金标准;(3)抗 PLA2R 抗体检测方法为 ELISA;(4)能直接或间接获得抗 PLA2R 抗体诊断膜性肾病的真阳性值(TP)、假阳性值(FP)、真阴性值(TN)、假阴性值(FN)(5)同一人或同一团队的重复研究排除;(6)排除综述、动物试验、非诊断性试验、重复报道或非原始文献。

1.2 检索策略 检索数据库包括 Medline、PubMed、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、万方及维普数据库。检索时间为 2012 年至 2017 年。采用英文检索词为 idiopathic membranous nephropathy 和 primary membranous nephropathy 联合 phospholipase A2 receptor,中文检索词为 IMN 及 PLA2R 或抗

* 基金项目:哈尔滨医科大学附属第二医院科研基金资助项目(KYBS2015-24)。

作者简介:金美丽,女,住院医师,主要从事自身抗体的检测及临床研究。△ 通信作者,E-mail:liuusa@yahoo.com。

PLA2R 抗体。根据摘要查出与本文有关的文献并获取原文,按所需文献及有关综述的引文查找所需文献。

1.3 质量评价 选用诊断性试验准确性评价工具 (QUADAS) 评价文献质量, 分别对 14 个条目按“是”(满足此标准)、“否”(不满足或未提及)、“不清楚”(部分满足或者从文献中无法得到足够信息) 3 个判断标准进行评价。

1.4 统计学分析 使用 Meta-Disc 1.4 软件进行 Meta 分析。提取各独立研究的 TP、FP、TN、FN, 绘制综合受试者工作特征 (SROC) 曲线, 计算 AUC 和 Q 指数, Q 指数为 SROC 曲线与直线 (敏感度 = 特异度) 相交处的敏感度, Q 指数越大, 表示诊断试验的准确性越高, AUC 越接近于 1, 表示诊断试验的准确性越高, 说明该项检查的诊断价值越高。利用 χ^2 检验评估各研究间的异质性, 根据异质性大小选择固定效应模型或随机效应模型, 固定效应模型 Meta 分析采用 Mantel-Haenszel 法合并效应量, 随机效应模型采用 DerSimonian & Laird 法合并效应量。

2 结 果

2.1 纳入研究的基本情况 在 Medline、Pubmed 共检索文献

109 篇, 在中国学术期刊全文数据库、万方数据库、维普数据库共检索文章 82 篇。其中 165 篇文章属于综述类文章或不相关文章被排除, 39 篇同种文献, 符合纳入标准的研究共 10 篇^[6-15], 共 1 517 例患者 (表 1)。研究地区主要集中在中国、德国、日本、西班牙以及荷兰等。研究设计方案为病例对照研究。

2.2 Meta 分析结果异质性及合并效应量 10 篇文献均报道了 ELISA 法检测抗 PLA2R 抗体 IMN 的诊断价值。图 1 所示抗 PLA2R 抗体的灵敏度为 50%~94% 之间, 合并敏感度为 0.68 [95% CI (0.64, 0.70)]; 异质性检验 $P=0.00, I^2=78.9\%$ ($P<0.05, I^2>50\%$) 视为异质性较高; 图 2 所示抗 PLA2R 抗体的特异度为 79%~100% 之间, 合并特异度为 0.92 [95% CI (0.90, 0.95)], 异质性检验 $P=0.00, I^2=80.6\%$ ($P<0.05, I^2>50\%$) 视为异质性较高; 由于单个研究之间异质性较高, 我们选用 SROC 曲线来验证 ELISA 法检测血清中抗 PLA2R 抗体对 IMN 的诊断价值, 图 3 显示 10 个研究的受试者工作曲线 SROC 示 AUC 为 0.807 4, SE 为 0.067 0。

表 1 纳入研究的基本情况

参考文献	年份	国家	方法	样本量	TP	FP	FN	TN
[6]	2012	荷兰	ELISA	48	12	1	6	16
[7]	2014	德国	ELISA	142	78	1	31	32
[8]	2014	德国	ELISA	299	100	1	57	141
[9]	2014	西班牙	ELISA	64	44	0	3	17
[10]	2015	中国	ELISA	86	19	12	11	44
[11]	2015	中国	ELISA	279	140	10	93	46
[12]	2016	日本	ELISA	97	19	0	19	21
[13]	2016	中国	ELISA	108	67	4	13	45
[14]	2016	中国	ELISA	100	34	8	16	42
[15]	2017	中国	ELISA	294	140	3	65	86

表 2 纳入研究的文献质量评价

参考文献	QUADAS 质量评价条目													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
[6]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[7]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[8]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[9]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[10]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[11]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[12]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[13]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[14]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否
[15]	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否	否

2.3 (1) 病例谱是否包含了各种病例及易混淆的疾病病例 (疾病谱组成); (2) 研究对象的选择 标准是否明确 (试验对象的选择和纳入标准); (3) 金标准是否能准确区分有病、无病状态 (金标准); (4) 金标准和待评价试验检测的间隔时间是否足够短,

以避免出现疾病病情的变化 (疾病进展偏倚); (5) 是否所有的样本或随机选择的样本均接受了金标准试验 (部分参照偏倚); (6) 是否所有疾病无论待评价试验的结果如何, 都接受了相同的金标准试验 (多重参照偏倚); (7) 金标准试验是否独立

于待评价试验,即待评价试验不包含在金标准(混合偏倚);(8)待评价试验的操作是否描述得足够清楚且可重复(待评价试验的实施);(9)金标准试验的操作是否描述得足够清楚且可重复(金标准的实施);(10)待评价试验的结果判读是否是在不知晓金标准试验结果的情况下进行的(试验解读偏倚);(11)金标准试验的结果判读是否是在不知晓待评价试验结果的情况下进行的(金标准解读偏倚);(12)当解释试验结果时,可获得的临床资料是否与实际应用中可获得的临床资料一致(临床解读偏倚);(13)是否报告了难以解释的中间试验结果(难以解释的试验结果);(14)对退出研究的病例是否进行解释(退出病例)。

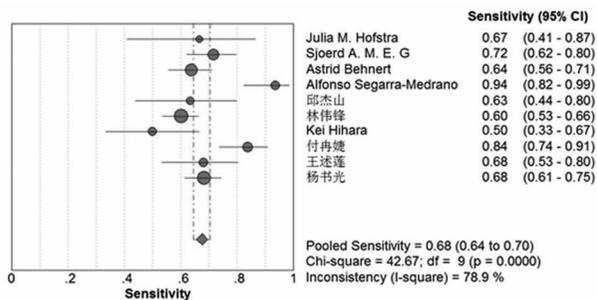


图 1 血清抗 PLA2R 抗体诊断 IMN 敏感度森林图

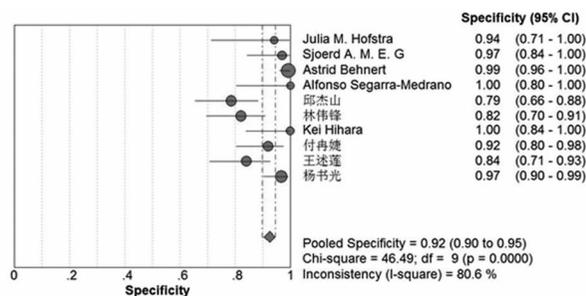


图 2 血清抗 PLA2R 抗体诊断 IMN 特异度森林图

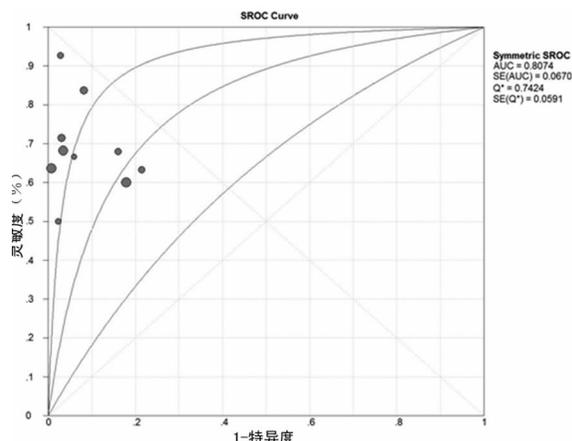


图 3 血清抗 PLA2R 抗体诊断 IMN 的 SROC 曲线

3 讨论

目前 IMN 诊断金标准为病理组织学的改变,但由于对病理取材标本的严格要求,单独一次活检可能无法判断,存在漏检率及一定的不良反应,很多患者尤其为老年人可能会比较排斥这一检查,故探索 IMN 患者特异性血清学标志物具有重要临床意义。研究显示抗 PLA2R 抗体在 IMN 的患者血清中可表达并且滴度较高,在其他膜性肾病患者(如 IgA 肾病、狼疮性肾病、局灶节段性肾小球肾炎、肾移植)中该抗体不表达或表

达滴度较低。因此,抗 PLA2R 抗体对 IMN 的诊断及鉴别诊断具有重要的临床意义。

本研究纳入文献均采用 ELISA 法筛查血清中抗 PLA2R 抗体。从而消除了由于检测抗 PLA2R 抗体检测的方法学不同导致的异质性。纳入研究的质量由于分组前已经知晓肾脏病理组织学试验结果,可能存在一定的偏倚。此外疾病的进展情况不同也可能存在疾病进展偏倚。

SROC AUC 是衡量某一诊断结果准确性的指标,AUC 越接近于 1,说明诊断效果也越好。曲线下面积在 0.5~0.7 时准确性较低,在 0.7~0.9 时是有一定的诊断性,>0.9 时具有较高的准确性。本研究显示 ROC 曲线 AUC 为 0.8074,说明血清中抗 PLA2R 抗体对于 IMN 患者的诊断具有一定的准确性。且其诊断灵敏度为 68%,特异度为达 92%。此外,由于 IMN 起病较隐匿,约 20% 患者可表现为无临床症状,体检时发现尿液检测异常就诊。ELISA 检测结果在检测所需时间及对患者的创伤性方面明显优于肾组织病理学检查。因此,对临床上疑似 IMN 的患者可选用 ELISA 法筛查血清中抗 PLA2R 抗体。

综上所述,ELISA 法检测抗抗 PLA2R 抗体对 IMN 诊断效能良好,特异度较高,可作为 IMN 诊断的有效补充指标。

参考文献

- [1] Glasscock RJ. The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey [J]. Am J Kidney Dis, 2010, 56(1):157-167.
- [2] Segal PE, Choi MJ. Recent advances and prognosis in idiopathic membranous nephropathy [J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2012, 19(2):114-119.
- [3] 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.
- [4] Fresquet M, Jowitt TA, Gummadova J, et al. Identification of a major epitope recognized by PLA2R autoantibodies in primary membranous nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2015, 26(2):302-313.
- [5] Kao L, Lam V, Waldman M, et al. Identification of the immunodominant epitope region in phospholipase A2 receptor-mediated antibody binding in idiopathic membranous nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2015, 26(2):291-301.
- [6] 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.
- [7] Timmermans SA, Damoiseaux JG, Heerings-Rewinkel PT, et al. Evaluation of Anti-PLA2R1 as Measured by a Novel ELISA in Patients With Idiopathic Membranous Nephropathy [J]. Am J Clin Pathol, 2014, 142(1):29-34.
- [8] Behnert A, Schiffer M, Muller-Deile J, et al. Antiphospholipase a2 receptor autoantibodies: a comparison of three different immunoassays for the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy [J]. J Immunol Res, 2014, 20(14):143-274.

- 2 diabetes in east Asians[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(1): 67-72.
- [31] Li H, Gan W, LU L, et al. A genome-wide association study identifies GRK5 and RASGRP1 as type 2 diabetes loci in Chinese Hans[J]. *Diabetes*, 2013, 62(1): 291-298.
- [32] Ma RC, Hu C, Tam CH, et al. Genome-wide association study in a Chinese population identifies a susceptibility locus for type 2 diabetes at 7q32 near PAX4[J]. *Diabetologia*, 2013, 56(6): 1291-305.
- [33] Saxena R, Saleheen D, Been LF, et al. Genome-wide association study identifies a novel locus contributing to type 2 diabetes susceptibility in Sikhs of Punjabi origin from India[J]. *Diabetes*, 2013, 62(5): 1746-1755.
- [34] Hanson RL, Muller YL, Kobes S, et al. A genome-wide association study in American Indians implicates DNER as a susceptibility locus for type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2014, 63(1): 369-376.
- [35] Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macias H, et al. Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico [J]. *Nature*, 2014, 506(7486): 97-101.
- [36] Anderson D, Cordell HJ, Fakiola M, et al. First Genome-Wide Association Study in an Australian Aboriginal Population Provides Insights into Genetic Risk Factors for Body Mass Index and Type 2 Diabetes [J]. *Plos One*, 2015, 10(3): e0119333.
- [37] Ng MCY, Shriner D, Chen BH, et al. Meta-Analysis of Genome-Wide Association Studies in African Americans Provides Insights into the Genetic Architecture of Type 2 Diabetes[J]. *Plos Genetics*, 2014, 10(8): e1004517.
- [38] Li R, Chen P, Li J, et al. Association of ARHGAP22 gene polymorphisms with the risk of type 2 diabetic retinopathy[J]. *J Gene Med*, 2017, 19(12): 6-7.
- [39] Salonen JT, Uimari P, Aalto JM, et al. Type 2 diabetes whole-genome association study in four populations; the DiaGen consortium[J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(2): 338-45.
- [40] Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels [J]. *Science*, 2007, 316(5829): 1331-1336.
- [41] Hara K, Fujita H, Johnson TA, et al. Genome-wide association study identifies three novel loci for type 2 diabetes [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(1): 239-246.
- [42] Mansoori Y, Daraei A, Naghizadeh MM, et al. Significance of a common variant in the CDKAL1 gene with susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Iranian population[J]. *Adv Biomed Res*, 2015, 4: 45.
- [43] Ren Q, Han X, Tang Y, et al. Search for genetic determinants of sulfonylurea efficacy in type 2 diabetic patients from China[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(4): 746-753.
- [44] Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, et al. Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(9): 1092-1097.
- [45] Rastegari A, Rabbani M, Sadeghi HM, et al. Association of KCNJ11(E23K) gene polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in Iranian patients[J]. *Adv Biomed Res* 2015, 4: 1.
- [46] Yao M, Wu Y, Fang Q, et al. Association of ADIPOQ variants with type 2 diabetes mellitus susceptibility in ethnic Han Chinese from Northeast China[J]. *J Diabetes Investig*, 2016, 7(6): 853-857.
- [47] Sun X, Sui W, Wang X, et al. Whole-genome re-sequencing for the identification of high contribution susceptibility gene variants in patients with type 2 diabetes[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(5): 3735-3746.
- [48] Cui B, Zhu X, Xu M, et al. A genome-wide association study confirms previously reported loci for type 2 diabetes in Han Chinese[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22353.
- [49] Lu J, Luo Y, Wang J, et al. Association of type 2 diabetes susceptibility loci with peripheral nerve function in a Chinese population with diabetes [J]. *J Diabetes Investig*, 2017, 8(1): 115-116.

(收稿日期: 2017-06-12 修回日期: 2017-08-28)

(上接第 3431 页)

- [9] Segarra-Medrano A, Jatem-Escalante E, Quiles-Perez MT, et al. Prevalence, diagnostic value and clinical characteristics associated with the presence of circulating levels and renal deposits of antibodies against the M-type phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy[J]. *Nefrologia*, 2014; 34(3): 353-359.
- [10] 邱杰山, 胡良峰, 张丽红, 等. 血清抗 M 型 PLA2R 抗体对特发性膜性肾病的诊断价值[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2016, 10(1): 15-20.
- [11] 林伟锋, 李航, 李雪梅, 等. 抗 PLA2R 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.
- [12] 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.
- [13] 付冉婕, 李绍梅, 焦素敏, 等. 肾组织 M 型 PLA2R 和血清抗体在成人特发性膜性肾病的诊断价值[J]. *中国医师杂志*, 2016, 18(12): 1820-1824, 1828.
- [14] 王述莲, 孙钧, 郑继伟, 等. 抗 PLA2R 抗体表达在特发性膜性肾病人肾组织及血液中的检测价值[J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(3): 434-436.
- [15] 杨书光, 窦艳娜, 王春燕, 等. M 型 PLA2R 相关检测在成人特发性膜性肾病诊断中的应用[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(5): 42-46.

(收稿日期: 2017-05-22 修回日期: 2017-08-11)