

· 论 著 ·

C-型凝集素样结构域1对特发性膜性肾病 预后影响的单中心研究

祝婉婷, 袁亦彤, 李钊, 李鲜英, 周华, 苏雪松, 杨旭, 张蓓茹, 王艳秋
中国医科大学附属盛京医院第一肾脏内科, 辽宁 沈阳 110004

摘要: **目的** 通过检测特发性膜性肾病(IMN)患者血清C-型凝集素样结构域1(CTLD1)的水平,探讨CTLD1对IMN预后影响的临床意义。**方法** 选取2016年9月至2019年12月盛京医院住院诊断为IMN的患者116例作为病例组,选取同期体检中心年龄、性别匹配的健康志愿者作为健康对照组。收集病例组患者的临床资料,随访 ≥ 2 年记录治疗与转归。ELISA法测血清抗M型磷脂酶A2受体(PLA2R)抗体水平及CTLD1抗原表位表达水平,比较CTLD1阳性组、阴性组之间临床指标的差异;分析影响IMN患者预后的因素。**结果** 健康对照组与病例组CTLD1表位表达差异有统计学意义($P < 0.01$)。CTLD1阳性组血补体3(C3)水平($Z = 2.402, P = 0.016$)、抗PLA2R抗体水平($Z = 2.266, P = 0.023$)高于CTLD1阴性组;CTLD1与血C3($r = 0.239, P = 0.012$)和抗PLA2R抗体($r = 0.233, P = 0.016$)分别存在正相关关系。Cox回归分析提示,CTLD1水平高是疾病缓解的不利因素($HR = 0.733, P < 0.05$),CTLD1阳性预示着预后不良($HR = 0.628, P < 0.05$)。**结论** CTLD1表位表达水平与PLA2R相关性IMN患者的预后相关,CTLD1对其病情评估及预后判断有一定的临床意义。

关键词: 膜性肾病, 特发性; 磷脂酶A2受体; C-型凝集素样结构域1; 补体3

中图分类号: R629.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2023)05-0679-05

CTLD1 on the prognosis of idiopathic membranous nephropathy: a single center study

ZHU Wanting, YUAN Yitong, LI Chai, LI Xianying, ZHOU Hua, SU Xuesong, YANG Xu, ZHANG Beiru, WANG Yanqiu

Department of Nephrology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110004, China

Corresponding author: WANG Yanqiu, E-mail: wangyq@sj-hospital.org

Abstract: Objective To explore the clinical significance of serum C-type lectin domain 1 (CTLD1) for prognosis of patients with idiopathic membranous nephropathy (IMN). **Methods** A total of 116 patients with IMN diagnosed in Shengjing Hospital from September 2016 to December 2019 were selected as the case group, and healthy volunteers with age and gender matching in the physical examination center during the same period were selected as the health control group. Clinical data of patients in case group were collected and followed up for ≥ 2 years to record treatment and outcome. The expression level of PLA2R antigen and CTLD1 antigen epitope were detected by ELISA. The differences of clinical indexes between CTLD1 positive group and negative group were compared, and the prognostic influencing factors of IMN patients were analyzed. **Results** There was a statistical difference in CTLD1 expression level between health control group and case group ($P < 0.01$). The blood C3 level ($Z = 2.402, P = 0.016$) and anti-PLA2R antibody level ($Z = 2.266, P = 0.023$) in CTLD1 positive group were statistically higher than those in CTLD1 negative group. CTLD1 was positively correlated with blood C3 ($r = 0.239, P = 0.012$) and anti-PLA2R antibody ($r = 0.233, P = 0.016$), respectively. Cox regression analysis showed that high CTLD1 level was an unfavorable factor for disease remission ($HR = 0.734, P < 0.05$), and positive CTLD1 predicted a poor prognosis for IMN patients ($HR = 0.628, P < 0.05$). **Conclusion** CTLD1 epitope expression level is related to the prognosis of IMN patients, with a assessment and significance for

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2023.05.009

基金项目: 辽宁省重点研发计划联合计划项目(2020JH2/10300150)

通信作者: 王艳秋, E-mail: wangyq@sj-hospital.org

出版日期: 2023-05-20

outcome of IMN patients.

Keywords: Membranous nephropathy, idiopathic; Phospholipase A2 receptor; C-type lectin domain 1; Complement 3

Fund program: Liaoning Province Key Research and Development Plan Joint Plan Project(2020JH2/10300150)

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)是成年人肾病综合征的常见病因,其特征是肾小球上皮下免疫复合物沉积,激活补体,形成人补体攻击单位(C5b-9)膜攻击复合物,损伤足细胞,形成蛋白尿^[1-4]。MN是一种自身免疫性疾病,M型磷脂酶A2受体(phospholipase A2 receptor, PLA2R)(阳性率为50%~80%)和1型血小板反应蛋白7A域(THSD7A)(阳性率为2%~4%)为足细胞抗原,诱导循环抗体产生,PLA2R和THSD7A自身抗体以肽类识别的优势表位可能是触发B细胞产生抗体的起始表位^[5-6]。目前全基因组关联分析已证实PLA2R是导致MN发生发展的危险因素^[6]。

PLA2R是一种分子量为180 000的甘露糖受体家族的分泌性磷脂酶的I型跨膜受体^[7]。2021年改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)指南提出,PLA2R阳性可以诊断为PLA2R相关性MN,抗PLA2R抗体水平可以作为特发性MN(IMN)病情评估危险分层的重要指标之一^[8]。PLA2R有一个巨大的细胞外区域,目前发现由1个N-末端富含半胱氨酸区域(N-terminal cysteine rich dominant, CysR),1个纤连蛋白II型结构域(fibronectin type II domain, FNII),和8个C-型凝集素样结构域(C-type lectin domain 1~8, CTLD1~8)组成PLA2R的构象抗原表位。CysR、CTLD1、CTLD7和CTLD8这四种构象表位可以被不同的自身抗体所识别^[9-10]。有研究发现PLA2R表位与疾病预后相关,表位CTLD1和/或CTLD7阳性的患者预后不良^[9]。

本研究应用酶联免疫吸附法(ELISA)检测PLA2R相关性IMN患者血清中抗体结合CTLD1表位的情况,分析CTLD1与IMN预后的相关性,进一步探讨CTLD1表位能否成为IMN患者病情评估及预后判断的生物学标志物。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2016年9月至2019年12月于中国医科大学附属盛京医院肾脏内科初诊为PLA2R相关性IMN的患者。收集同时期中国医科大学附属盛京医院体检中心信息,选取年龄、性别匹配的健康志愿者作为健康对照组,所有患者均知情并同意参加。病例组纳入标准:(1)年龄为18~75岁;(2)肾脏活检诊断为IMN,肾组织PLA2R免

疫荧光染色阳性,血清抗PLA2R抗体检测为阳性[抗PLA2R抗体滴度 ≥ 20 酶的活力单位(RU)/mL];(3)根据KDIGO治疗指南规范治疗,且随访时间 ≥ 2 年。排除标准:(1)继发性MN,例如全身性自身免疫性疾病、肿瘤、感染或长期摄入药物[金盐、非甾体抗炎药(NSAIDs)、青霉素等];(2)合并以下任何一种疾病,即恶性肿瘤,糖尿病肾病,严重肾功能不全,有影响治疗方案实施或寿命的心脑血管疾病及肺病;(3)临床资料不完整、失访者。本研究通过中国医科大学附属盛京医院伦理委员会的审批(审批号:2022PS363K)。

1.2 观察指标

1.2.1 随访时间 从完善肾活检,结合化验结果确诊到随访结束。

1.2.2 治疗效果^[11-12] 完全缓解:至少间隔1周的24h尿蛋白(24-hour urinary protein quantity, 24h-pro)值 ≤ 0.3 g/d,伴有正常的血清白蛋白(ALB)及正常血清肌酐(serum creatinine, Scr),至少观察6个月。部分缓解:24h-pro在0.3~3.5 g/d或24h-pro与基线相比减少幅度 $>$ 基线的50%,至少间隔1周证实,同时ALB改善或正常,Scr稳定,至少观察6个月。未缓解:24h-pro > 3.5 g/d;或24h-pro与基线相比减少幅度 $<$ 基线的50%。复发:缓解后再次24h-pro > 3.5 g/d。终末期肾脏病:肾小滤过率(glomerular filtration rate, GFR) < 15 mL/min,或进行透析,或肾脏移植。

1.2.3 随访终点 治疗有效;治疗无效的患者随访至2021年12月。

1.2.4 正常值界定 健康人群平均值+3标准差(SD)^[9-10]。

1.3 研究方法

1.3.1 资料收集 收集患者性别、年龄、病程、血常规、尿常规、24h-pro、肝肾功能、抗PLA2R抗体、免疫相关指标,治疗方法,肾脏病理等临床资料。肾穿刺术后按照Ehrenreich分级标准进行病理分级。

1.3.2 样本收集及处理 健康志愿者及初发IMN患者在应用药物前,空腹抽取外周静脉血,以3 000 r/min(离心半径16.8 cm)离心20 min后,将上清液收集于Eppendorf管中,-80℃环境中保存。

1.3.3 检测抗PLA2R抗体滴度 应用ELISA测定

血清中抗 PLA2R 抗体的滴度(试剂盒购自德国欧蒙公司)。

1.3.4 CTLD1 基因的克隆及蛋白质的诱导表达 根据美国国家生物技术信息中心(NCBI)查询 PLA2R 的氨基酸序列,分析 CTLD1 抗原表位的相关信息,确定目标蛋白,根据氨基酸序列对目的基因序列优化。基因合成:对目的基因序列采用化学合成的方法进行基因合成,克隆至表达载体 pET30a(北京华大蛋白有限公司)。重组质粒转染大肠杆菌^[9]:将重组质粒与 BL21 感受态细胞(北京华大蛋白有限公司)混合,在冰中放置 30 min;热激反应 90 s;冰浴 2 min;加入无抗性 LB 培养基(北京华大蛋白有限公司),37 °C 环境中温育 45 min;温育后以 5 000 r/min(离心半径 11.2 cm)离心 3 min,重悬菌体,选择 LB 平板(卡那霉素),涂板,晾干,于 37 °C 培养箱中倒置培养过夜。诱导 CTLD1 蛋白质表达:接活化的菌液到 LB 液体培养基中培养至 OD=0.6~0.8,异丙基硫代-β-D-呋喃半乳糖苷(IPTG)(0.5 mM, Sigma 公司)37 °C 诱导 4 h。收菌:8 000 r/min(离心半径 11.2 cm)离心后回收沉淀。超声破菌:菌体用 10 mmol/L Tris-HCl(pH 值 8.0)溶液吹散(上海生工),超声波破碎(功率 500 W, 180 次,每次 5 s,间隔 5 s)。纯化蛋白:将 10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0)溶液加入到超声离心得到的沉淀中进行重悬,以 12 000 r/min(离心半径 11.2 cm)的转速离心 10 min,留存上清。重复上述沉淀重悬离心操作两次。再次重悬,加入含 8 mol/L 尿素的 10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0)溶液溶解蛋白,12 000 r/min(离心半径 11.2 cm)离心 10 min,纯化蛋白电泳,同时进行质谱分析。

1.3.5 ELISA 法检测血清 CTLD1 表达水平 将 CTLD1 包被到 ELISA 板上,4 °C 包被(包被液:碳酸钠—碳酸氢钠缓冲液,pH 值 9.6, Sigma 公司)过夜。封闭:2%脱脂奶粉(BD 公司)温育。加一抗:将样本 100 倍稀释加入到 ELISA 板中,50 μL/孔,留空白,平行复孔。温育第一次:37 °C 温育 1 h。洗涤。加二抗:将山羊抗人 IgG(H+L)-HRP 抗体(Jackson 公司)以 20 000 倍稀释加入到 ELISA 板中,100 μL/孔。温育第二次,洗涤。显色:每孔加入底物液 A(非那西丁+柠檬酸缓冲液, Sigma 公司)50 μL,再加入底物液 B(TMB+DMSO, Sigma 公司)50 μL,室温避光显色。测定:显色完毕后,每孔加入终止液(2 mol/L 硫酸, Sigma 公司),在单波长 450 nm(以空白对照孔调零)下测定各孔 A 值。本实验由北京华大蛋白质研发中心有限公司完成。根据健康组人群平均值+3SD 界

定阳性范围。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。使用 Shapiro-Wilk 检验检验计量资料是否符合正态分布,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布的计量资料使用中位数(四分位间距) [$M(IQR)$] 表示,使用 Student *t* 检验或 Mann-Whitney U 检验(对于非正态分布的变量)比较计量资料;分类资料以例(%)表示,使用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验比较。偏态分布计量资料的相关性使用 Spearman 秩相关分析。采用多变量 Cox 回归分析影响 IMN 预后的因素。所有检验均为双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般资料 根据纳入、排除标准,符合入组的 PLA2R 相关性 IMN 患者共 116 例,年龄 19~70 岁,男性 62 例,女性 54 例。健康志愿者 49 例,年龄 25~67 岁,男性 26 例,女性 23 例,化验检查均在正常值范围。病例组基本资料结果见表 1。

表 1 PLA2R 相关性 IMN 患者基本临床特征 (n=116)

Tab. 1 The clinical characters of patients with PLA2R related IMN (n=116)

项目	数值	项目	数值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	49.50±11.78	血 C3[g/L, $M(IQR)$]	0.92(0.26)
男/女(例)	62/54	血 C4[g/L, $M(IQR)$]	0.25(0.08)
随访时间[月, $M(IQR)$]	26(10)	抗 PLA2R 抗体 [kU/mL, $M(IQR)$]	74.05 (96.47)
病程[月, $M(IQR)$]	2.0(6.5)	肾脏病理[例(%)]	
收缩压[mmHg, $M(IQR)$]	139(30)	I	7(6.03)
尿红细胞[1/HP, $M(IQR)$]	12.63(25.45)	II	93(80.17)
24 h-pro[g/d, $M(IQR)$]	6.45(6.56)	III	15(12.93)
尿酸(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	352.16±100.32	IV	1(0.86)
Hb[g/L, $M(IQR)$]	134.00(25.80)	治疗方法[例(%)]	
ALB(g/L, $\bar{x} \pm s$)	23.43±5.39	ACEI/ARB	30(25.86)
BUN[mmol/L, $M(IQR)$]	4.82(2.48)	CS	7(6.03)
Ser[μmol/L, $M(IQR)$]	67.50(57.48)	他克莫司	10(8.62)
eGFR[mL/(min·1.73 m ²), $\bar{x} \pm s$]	100.31±27.31	CS+环磷酰胺	56(48.27)
血 IgM[g/L, $M(IQR)$]	0.86(0.59)	CS+他克莫司	8(6.90)
血 IgG[g/L, $M(IQR)$]	4.82(3.08)	其他	5(4.31)
		治疗有效率[例(%)]	90(77.59)

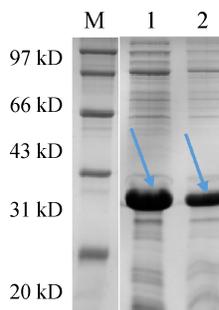
注:Hb,血红蛋白;BUN,血尿素氮;eGFR,估计肾小球滤过率;C3,补体 3;C4,补体 4;ACEI/ARB,血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素受体拮抗剂;CS,糖皮质激素。

2.2 CTLD1 蛋白质表达纯化结果 CTLD1 蛋白电泳结果见图 1。CTLD1 理论融合蛋白分子量为 22 000,10 倍稀释仍有大量表达。质谱分析提示 CTLD1 氨基酸片段覆盖率 81%。以 1:100 的稀释倍数对样本进行 ELISA 检测,发现 CTLD1 蛋白吸光值(A 值)在病例组

的 $M(IQR)$ 值[0.33(0.49)](mAU)明显高于健康对照组[0.14(0.13)](mAU),差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.3 CTLD1 不同组间临床指标的比较 以健康对照组 CTLD1 平均值+3SD 为分界值,将 116 例患者分为 CTLD1 阴性组 67 例和 CTLD1 阳性组 49 例,血 C3 水平、抗 PLA2R 抗体水平在 CTLD1 阳性组中高于 CTLD1 阴性组($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 CTLD1 与不同临床指标的相关性 相关性分析显示,CTLD1 与血 C3 ($r = 0.239, P = 0.012$)及抗 PLA2R 抗体 ($r = 0.233, P = 0.016$)存在正相关。CTLD1 与其他临床指标无相关性($P > 0.05$)。见表 3。



注: M, Marker; 1, 纯化蛋白稀释 5 倍; 2, 纯化蛋白稀释 10 倍; 箭头所示目标蛋白条带为 CTLD1 抗原表位的 ELISA 检测结果。

图 1 CTLD1 蛋白大量表达纯化电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of large amount expression and purification of CTLD1 protein

表 2 CTLD1 分组之间临床指标比较

Tab. 2 Comparison of the clinical characters between the CTLD1 high expression and low expression

项目	CTLD1 阴性组 (n=67)	CTLD1 阳性组 (n=49)	t/ χ^2 Z 值	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	50.00 \pm 11.67	49.57 \pm 12.06	0.193	0.848
男性/女性(例)	38/29	24/25	0.681	0.454
病程[月, $M(IQR)$]	2.5(5.5)	2.0(7.0)	0.700	0.487
收缩压[mmHg, $M(IQR)$]	140(30)	130(30)	0.544	0.589
尿红细胞[/HP, $M(IQR)$]	11.30(26.57)	14.45(25.32)	0.377	0.708
24 h-pro[g/d, $M(IQR)$]	6.44(6.54)	6.23(7.66)	0.293	0.771
尿酸(μ mol/L, $\bar{x} \pm s$)	348.48 \pm 95.48	357.20 \pm 107.39	0.461	0.646
Hb[g/L, $M(IQR)$]	134.00(25.00)	133.00(28.50)	0.313	0.756
ALB(g/L, $\bar{x} \pm s$)	23.14 \pm 5.31	23.95 \pm 5.41	0.797	0.429
BUN[mmol/L, $M(IQR)$]	4.98(2.56)	4.71(2.28)	1.121	0.264
Scr[μ mol/L, $M(IQR)$]	67.30(29.80)	68.10(21.40)	0.204	0.840
eGFR[mL/(min \cdot 1.73m ²), $\bar{x} \pm s$]	99.63 \pm 25.98	100.88 \pm 28.80	0.240	0.808
血 IgM[g/L, $M(IQR)$]	0.82(0.75)	0.97(0.58)	0.344	0.733
血 IgG[g/L, $M(IQR)$]	4.80(3.32)	5.31(3.02)	1.451	0.148
血 C3[g/L, $M(IQR)$]	0.87(0.29)	0.98(0.27)	2.402	0.016
血 C4[g/L, $M(IQR)$]	0.24(0.10)	0.26(0.07)	0.853	0.396
抗 PLA2R 抗体[RU/mL, $M(IQR)$]	67.49(81.91)	87.34(112.89)	2.266	0.023

2.5 影响 IMN 患者预后的 Cox 回归分析 将治疗结局分为治疗有效与治疗无效,治疗有效包括缓解与部分缓解,治疗无效包括未缓解、复发及肾功能进展。单因素 Cox 回归分析中,由于 ELISA 实验得出的 A 值数量级较小,故采取调整数量级的方法,取 CTLD1/SD 进行 Cox 回归分析,经验证数据符合等比例风险模型,结果提示 CTLD1/SD 与预后相关($HR = 0.734, 95\%CI: 0.583 \sim 0.935, P = 0.012$)。逐步回归法仅纳入 CTLD1/SD 进入多因素 Cox 回归分析,本研究挑选公认的预后指标:24 h-pro、ALB、eGFR 纳入多因素 Cox 回归分析,提示 CTLD1/SD 水平影响预后($HR = 0.733, P = 0.011$)(表 4),经验证不存在严重的多重共线性[容差 >0.1 或方差膨胀因子(VIF) <10]。CTLD1 阳性预示着患者预后不良($HR = 0.628, 95\%CI: 0.407 \sim 0.970, P = 0.036$)。

表 3 CTLD1 与不同临床指标的相关性分析

Tab. 3 The correlation analysis of CTLD1 with clinical characters

临床指标	r 值	P 值	临床指标	r 值	P 值
年龄	0.062	0.510	BUN	-0.078	0.403
病程	0.070	0.452	Scr	0.014	0.881
收缩压	-0.034	0.719	eGFR	-0.084	0.371
尿红细胞	-0.003	0.977	血 IgM	0.049	0.614
24 h-pro	0.218	0.116	血 IgG	0.170	0.078
尿酸	0.060	0.519	血 C3	0.239	0.012
Hb	-0.071	0.448	血 C4	0.056	0.561
ALB	0.112	0.232	抗 PLA2R 抗体	0.233	0.016

表 4 不同临床指标对预后影响的多因素 Cox 分析

Tab. 4 Multivariate Cox analysis of the influence of different clinical indicators on prognosis

项目	β	SE	Wald χ^2 值	P 值	HR 值	95% CI
CTLD1/SD	-0.310	0.123	6.404	0.011	0.733	0.576~0.932
24 h-pro	-0.001	0.025	0.001	0.977	0.999	0.952~1.050
ALB	0.001	0.024	0.002	0.969	1.001	0.954~1.050
eGFR	-0.004	0.005	0.785	0.376	0.996	0.987~1.005

3 讨论

2009 年 Beck 等^[7]发现了 PLA2R,2016 年 Seitz-Polski 等^[9]发现 PLA2R 抗原表位与 IMN 的预后相关,为临床的预后判断和治疗提供了一个新的方向。

CTLD1 和/或 CTLD7 阴性与病情初期、轻度、稳定相关,CTLD1/7 阳性预示疾病活动、预后不良,对治疗有抵抗力,PLA2R 抗体高水平^[9,13-18]。有研究者提出,相比抗 PLA2R 抗体水平,CTLD1 和/或 CTLD7 阳性更能提示患者的预后不良^[19]。PLA2R 的抗原表位有望成为新兴的判断预后的生物学标记物^[9]。

为进一步探讨 PLA2R 表位与临床预后的关系,本研究合成了 CTLD1 抗原表位蛋白,选取 116 例初诊为 IMN 的患者进行了 CTLD1 的测定,发现血 C3 及抗 PLA2R 抗体在 CTLD1 阳性组水平较高,CTLD1 与抗 PLA2R 抗体及 C3 呈正相关。

有研究发现 PLA2R 表位中 CTLD1 及 CTLD7 阳性与不良的结局有关,但存在一定争议^[10]。本研究发现 CTLD1 与预后相关,CTLD1 表达高者影响疾病的缓解,CTLD1 阳性者预后不佳,但是目前样本量较少,未来仍需要大量样本来进行验证。

目前 PLA2R 的基因学研究表明,PLA2R1(染色体 2)和 HLA-DQA1(染色体 6)的单核苷酸多态性(SNP)和 MN 相关^[20-21]。在 CTLD1 域出现的 M292V 和 H300D 两个 SNP 和 IMN 发病关系密切^[22],从基因层面上揭示了 CTLD1 与 IMN 的关系。但目前研究较少,还需要进一步研究来探讨基因对于 IMN 的临床意义。

2021 年最新的 KDIGO 指南提出利妥昔单抗作为一线用药^[8]。CTLD1 和/或 CTLD7 阳性可能会使自身免疫性疾病出现药物抵抗,研究发现利妥昔单抗可以逆转表位表达,使 CTLD1 和/或 CTLD7 阳性的患者转阴,获得临床缓解^[23]。表位和药物的选择有关,可以辅助治疗方案的选择。

综上所述,CTLD1 与患者的预后相关,CTLD1 阳性提示患者预后不良,可及早应用利妥昔单抗进行治疗。由于本研究属于单中心研究,并且样本量较少,需要更大的群体样本进行研究,进一步探讨 PLA2R 表位与预后的关系。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Beck LH Jr. PLA2R and THSD7A: disparate paths to the same disease? [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(9): 2579-2589.
- [2] Francis JM, Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: a journey from bench to bedside [J]. *Am J Kidney Dis*, 2016, 68(1): 138-147.
- [3] Li WH, Guo YP, Zhang ZP, et al. Comparison of 2 anti-PLA2R immunoassays for the diagnosis of primary membranous nephropathy [J]. *Lab Med*, 2018, 49(4): 316-322.
- [4] Qu Z, Zhang MF, Cui Z, et al. Antibodies against M-type phospholipase A2 receptor may predict treatment response and outcome in membranous nephropathy [J]. *Am J Nephrol*, 2018, 48(6): 438-446.
- [5] Rovin BH, Caster DJ, Cattran DC, et al. Management and treatment of glomerular diseases(part 2): conclusions from a Kidney Disease: improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference[J]. *Kidney Int*, 2019, 95(2): 281-295.
- [6] Fresquet M, Rhoden SJ, Jowitt TA, et al. Autoantigens PLA2R and THSD7A in membranous nephropathy share a common epitope motif

- in the N-terminal domain[J]. *J Autoimmun*, 2020, 106: 102308.
- [7] Beck LH Jr, Bonegio RGB, 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.
- [8] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerular Diseases Work Group. KDIGO 2021 clinical practice guideline for the management of glomerular diseases[J]. *Kidney Int*, 2021, 100(4S): S1-S276.
- [9] Seitz-Polski B, Dolla G, Payré 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.
- [10] Reinhard L, Zahner G, Menzel S, et al. Clinical relevance of domain-specific phospholipase A₂ receptor 1 antibody levels in patients with membranous nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2020, 31(1): 197-207.
- [11] Couser WG. Primary membranous nephropathy [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017, 12(6): 983-997.
- [12] Chapter 7: idiopathic membranous nephropathy [J]. *Kidney Int Suppl*(2011), 2012, 2(2): 186-197.
- [13] Ronco P, Beck L, Debiec H, et al. Membranous nephropathy [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 69.
- [14] Safar-Boueri L, Piya A, Beck LH Jr, et al. Membranous nephropathy: diagnosis, treatment, and monitoring in the post-PLA2R era [J]. *Pediatr Nephrol*, 2021, 36(1): 19-30.
- [15] Gu Y, Xu H, Tang DM. Mechanisms of primary membranous nephropathy [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(4): 513.
- [16] Akiyama S, Imai E, Maruyama S. Immunology of membranous nephropathy [J]. *F1000Res*, 2019, 8: F1000 Faculty Rev-734.
- [17] Beck LH Jr, Salant DJ. Refining our understanding of the PLA2R-antibody response in primary membranous nephropathy: looking forward, looking back [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2020, 31(1): 8-11.
- [18] Lutz J. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of membranous nephropathy [J]. *Néphrologie Thérapeutique*, 2021, 17: S1-S10.
- [19] Seitz-Polski B, Debiec H, Rousseau A, et al. Phospholipase A2 receptor 1 epitope spreading at baseline predicts reduced likelihood of remission of membranous nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(2): 401-408.
- [20] Lv JC, Hou WY, Zhou XJ, et al. Interaction between PLA2R1 and HLA-DQA1 variants associates with anti-PLA2R antibodies and membranous nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(8): 1323-1329.
- [21] Thiri M, Honda K, Kashiwase K, et al. High-density association mapping and interaction analysis of PLA2R1 and HLA regions with idiopathic membranous nephropathy in Japanese [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38189.
- [22] 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.
- [23] Salant DJ. Does epitope spreading influence responsiveness to rituximab in PLA2R-associated membranous nephropathy? [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2019, 14(8): 1122-1124.

收稿日期:2022-07-27 修回日期:2022-09-27 编辑:王娜娜