

# 自制抗人磷脂酶 A2 受体抗体 ELISA 试剂盒的临床应用评价

黄莉敏<sup>1\*</sup>, 张大准<sup>2\*</sup>, 王艳<sup>1</sup>, 张巧<sup>2</sup>, 梁伟<sup>1</sup>, 张永顶<sup>2</sup>, 熊祖应<sup>1</sup>

1 北京大学深圳医院 肾内科, 广东 深圳 518035

2 深圳市伯劳特生物制品有限公司, 广东 深圳 518054

黄莉敏, 张大准, 王艳, 等. 自制抗人磷脂酶 A2 受体抗体 ELISA 试剂盒的临床应用评价. 生物工程学报, 2018, 34(5): 743–751.  
Huang LM, Zhang DZ, Wang Y, et al. Clinical application of homemade ELISA kit for anti-human phospholipase A2 receptor antibody. Chin J Biotech, 2018, 34(5): 743–751.

**摘要:** 旨在自制能够辅助诊断原发性膜性肾病的抗磷脂酶 A2 受体 (PLA2R) 抗体酶联免疫吸附试验 (ELISA) 定量检测试剂盒; 通过包埋 HEK293 细胞表达的重组抗原、患者血清与抗原反应、酶的催化放大效应测定样本中抗 PLA2R IgG 滴度, 通过临床数据分析、与市售试剂盒的比对, 评价该试剂盒的临床应用价值及性能。研究发现自制试剂盒与国外试剂盒检测阳性一致率 97.2%, 阴性一致率 100%; 检测限不高于 2 RU/mL; 准确度的测量相对偏差在±15% 区间内; 试剂盒线性范围在 2–500 RU/mL, 线性相关系数  $r$  值不低于 0.990 0; 重复性检测的变异系数 (CV) 小于 15%; 于 37 °C 恒温箱放置 1 周后, 2–8 °C 放置 1 年后, 检测性能无明显改变。结果表明自制试剂盒对血清抗 PLA2R 抗体检测的敏感性、特异性均与德国欧蒙公司 (E150522BD) 试剂盒相近, 诊断效能高, 可用于原发性膜性肾病辅助诊断。

**关键词:** 磷脂酶 A2 受体, 抗体, 酶联免疫吸附试验, 原发性膜性肾病, 血清

## Clinical application of homemade ELISA kit for anti-human phospholipase A2 receptor antibody

Limin Huang<sup>1\*</sup>, Dazhun Zhang<sup>2\*</sup>, Yan Wang<sup>1</sup>, Qiao Zhang<sup>2</sup>, Wei Liang<sup>1</sup>, Yongding Zhang<sup>2</sup>, and Zuying Xiong<sup>1</sup>

1 Department of Nephrology, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518035, Guangdong, China

2 Shenzhen Blot Biotech Co. Ltd, Shenzhen 518054, Guangdong, China

**Abstract:** To develop and evaluate an ELISA kit for Anti-PLA2R IgG. Recombinant M-type phospholipase A2 receptor

**Received:** November 21, 2017; **Accepted:** January 26, 2018

**Supported by:** Key Technologies Research and Development Program of China (No. 2013BAI07B01), Science and Technology Plan Projects of Guangdong Province (No. 2014A020212049).

**Corresponding author:** Zuying Xiong. E-mail: Xiongzy2005@163.com

\*These authors contributed equally to this study.

国家科技支撑计划 (No. 2013BAI07B01), 广东省科技计划项目 (No. 2014A020212049) 资助。

网络出版时间: 2018-03-12

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20180312.0941.001.html>

(PLA2R) protein expressed in HEK293 was taken as coating antigen, HRP-labeled rabbit anti-human IgG was taken as a tracer, to test the anti-PLA2R IgG on the basis of the principle of ELISA. The detection linear range, accuracy, linear correlation, repeatability, and stability were evaluated. In addition, we made a comparison with enrolled anti-PLA2R IgG kit. The detection linear range of the kit is no more than 2 RU/mL. The relative deviation of the kit accuracy is in -15%~15%. There is a linear correlation coefficient of higher than 0.990 0 within 2~500 RU/mL range. The CV of the repeatable test is lower than 15% when the kit was put in 37 °C one week, 2~8 °C one year, the performance remains. The consistency of testing with comparison in enrolled anti-PLA2R IgG kit is 98.9% (positive: 97.2%, negative: 100%). The Anti-PLA2R IgG ELISA Kit which we developed is nearly identical to the reference standard in specific and sensitive of clinics. It's successfully used to determine anti-PLA2R titer and help clinical diagnosis.

**Keywords:** M-type phospholipase A2 receptor, antibody, ELISA, primary membranous nephropathy, serum

膜性肾病 (Membranous nephropathy, MN) 是一个病理学概念, 根据病因可分为原发性膜性肾病 (Primary membranous nephropathy, pMN) 和继发于全身其他病因的继发性膜性肾病 (Secondary membranous nephropathy, sMN)。两者临床表现相似, 仅从临床表现不能进行鉴别, 但两者治疗方案差异巨大, 如何鉴别 pMN 和 sMN 一直困扰着国内外肾脏病专家<sup>[1-2]</sup>。2009 年, Beck 等<sup>[3]</sup>在 pMN 患者血清中检测出抗 M 型磷脂酶 A2 受体 (Phospholipase A2 receptor, PLA2R) 抗体, 抗体阳性率可达约 70%; 而健康人、sMN 病人及其他肾病患者血清抗体均阴性, 提示抗 PLA2R 抗体可能是 pMN 特异性标志物。而国内外相关研究也相继证实抗 PLA2R 抗体在膜性肾病中的作用<sup>[4]</sup>。

目前市场上仅有欧蒙公司能生产该 ELISA 试剂盒, 本研究通过自主研发, 自制了 PLA2R 抗体定量检测 ELISA 试剂盒, 并对试剂盒性能进行了评价。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 研究对象

#### 1.1.1 pMN 组

北京大学深圳医院肾内科 2010 年 5 月至 2016 年 2 月住院患者, 经肾穿刺活检病理组织检查, 通过光镜、免疫荧光、电镜确诊为 MN; 并通过临床资料, 结合实验室检查, 排除肿瘤、药物、感

染及其他自身免疫病等引起的继发性膜性肾病。于肾穿刺当日清晨留取患者血清标本, 符合标准的 276 例 pMN 患者入组。

#### 1.1.2 非 pMN 组

随机选取同期诊断为其他肾脏病及健康体检者, 共 122 例入组。包括继发性膜性肾病 (sMN) 12 例, 肾功能不全 9 例, 糖尿病患者 8 例, 系统性红斑狼疮 6 例, 健康体检者 87 名 (年龄在 20~70 岁之间)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 样本收集

所有入组患者于清晨空腹状态下采集静脉血, 于 3 000 r/min、4 °C 离心 10 min。分离血清, 并分装于 -80 °C 冰箱待用。

### 1.2.2 抗原及校准品制备

抗原为 HEK293 细胞表达的重组 PLA2R 全长蛋白 (由美国 SHENZHEN BLOT BIOTECH-WISCONSIN, LLC 公司提供, HEK293 细胞表达)。校准品通过德国欧蒙公司 (E150522BD) 检测膜性肾病患者血清, 选取抗体滴度大于 1 500 RU/mL 的阳性血清, 将阳性血清混合后以阴性血清进行不同比例稀释作候选校准品原料血清, 再通过注册试剂盒重复检测候选校准品血清 3 次, 选择与注册试剂盒校准品 OD 值无差异 ( $P>0.05$ ) 的校准品候选血清。入选校准品血清以校准品稀释液稀释 101 倍即得自制试剂盒校准品 (市售试剂盒

校准品滴度 2、20、100、500、1 500 RU/mL)。

### 1.2.3 自制 ELISA 试剂盒

用 0.05 mol/L CB 缓冲液稀释重组 PLA2R 抗原至 1  $\mu\text{g/mL}$ ，加入酶标板，每孔 100  $\mu\text{L}$ ，于 4  $^{\circ}\text{C}$  包被过夜。TBS 缓冲液洗涤 3 次，每次 5 min。每孔加入 1% 的 BSA，150  $\mu\text{L/孔}$ ，室温 (18–26  $^{\circ}\text{C}$ ) 封闭 30 min。将酶标板拍干，置于室温 (18–26  $^{\circ}\text{C}$ )、湿度 <15% 条件下干燥 2–4 h，封装并保存于 4  $^{\circ}\text{C}$  备用。

### 1.2.4 自制 ELISA 试剂盒检测血清抗体滴度

待检样本用 Tris+1% BSA 稀释液按 1 : 101 稀释 (Sigma 公司)，取包被好的酶标板条，室温平衡之后，加入稀释好的样本和校准品以及对照品，每孔 100  $\mu\text{L}$ ，室温温育 30 min；然后洗涤 3 次 (TECAN 洗板机)，加入 1 : 6 000 稀释好的 HRP 标记兔抗人 IgG (Sigma 公司)，每孔 100  $\mu\text{L}$ ，室温温育 30 min；洗涤 3 次，加入底物 TMB，每孔 100  $\mu\text{L}$ ，室温避光反应 30 min；加入 0.5 mol/L 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ，每孔 100  $\mu\text{L}$  终止反应。用酶标仪 (TECAN NanoQuant) 测定 450 nm 和 620–650 nm 任一波长处的吸光度值，以 450 nm 波长处的吸光度值减去 620–650 nm 波长处的吸光度值记为各孔的 OD 值。然后以校准品的浓度值 2、20、100、500、1 500 RU/mL 作为  $x$  轴，各校准品对应的 OD 值作  $y$  轴，进行曲线回归拟合，根据拟合的标准曲线方程计算出各待测样本的浓度。

### 1.2.5 注册试剂盒测血清抗体滴度

该检测试剂盒购自德国欧蒙公司 (E150522BD)，实验操作按试剂盒内说明书进行。并根据说明书将血清抗体滴度 <14 RU/mL 记为阴性，将抗体滴度 >20 RU/mL 记为阳性。若抗体滴度介于 14–20 RU/mL 则为疑似阳性，疑似阳性患者选取同期血清进行多次检测，>20 RU/mL 记为阳性。

## 1.3 统计学分析

统计学分析均用 SPSS 19.0，以  $\alpha=0.05$  为检验水准， $P<0.05$  说明差异有统计学意义。

### 1.3.1 准确度

用试剂盒内阳性对照直接进行检测，重复测量 3 次后，其平均值记作  $\bar{x}$ ，根据公式：测量偏差 =  $(\bar{x} - \text{理论值}) / \text{理论值} \times 100\%$ ，结果相对偏差在  $\pm 15\%$  区间内。

### 1.3.2 检测限

用样本稀释液作为样本进行检测，重复测定 20 次，得出 20 次测量结果的吸光度值 ( $A$  值)，计算其平均值 ( $\bar{x}$ ) 和标准差 ( $s$ )，得出  $\bar{x} + 2s$  所对应  $A$  值，根据试剂盒所用校准品校准曲线方程，将  $\bar{x} + 2s$  所对应  $A$  值代入上述方程中，求出对应浓度值，即为检测限，其结果不高于 2 RU/mL。其中自制试剂盒记为 A1，市售试剂盒记为 A2。

### 1.3.3 测量系统线性范围

将接近线性范围上限的校准品用样本稀释液倍比稀释为 5 种浓度，其中低值样本需接近线性范围下限。按试剂盒说明书进行操作，将每一浓度样本重复检测 2 次，计算其浓度平均值，将结果平均值和稀释比例用最小二乘法进行直线拟合，并计算线性相关系数  $R^2$ ，结果线性范围 2–500 RU/mL，线性相关系数  $R^2$  值不低于 0.99。

### 1.3.4 重复性

用 2 个浓度水平样本各重复检测 10 次，计算 10 次测量浓度结果平均值  $\bar{x}$  和标准差  $s$ ，根据如下公式 (1) 得出变异系数 CV，结果变异系数 (CV) 不高于 15%。其中自制试剂盒记为 CV1，市售试剂盒记为 CV2。

$$CV = s / \bar{x} \times 100\% \quad (1)$$

式中，CV：变异系数； $s$ ：10 次测量结果标准差； $\bar{x}$ ：10 次测量结果平均值。

### 1.3.5 批间差

用 3 个批号试剂盒分别检测同一份样本，各重复 10 次，计算 30 次测量浓度值平均值  $\bar{x}$  和标准差  $s$ ，根据公式 (2) 得出变异系数 CV，结果变异系数 (CV) 不高于 15%。其中自制试剂盒记为 CV1，市售试剂盒记为 CV2。

$$CV=s/\bar{x}\times 100\% \quad (2)$$

### 1.3.6 稳定性检测

试剂盒在 37 °C 恒温箱放置 6 d 后, 2–8 °C 贮存 365 d 后, 取试剂盒检测准确度、检测限、线性范围、重复性, 应符合以上 1.3.1–1.3.5 要求。

## 2 结果

### 2.1 自制试剂盒性能评价结果

自制试剂盒测量偏差如表 1 所示, 市售试剂盒测量偏差如表 2 所示, 测量偏差均在±15% 区间内。两组测量偏差比较,  $P>0.05$ , 不认为两组试剂盒的

测量偏差存在统计学差异。

检测限评估结果见表 3 及表 4, 试剂盒检测限均不高于 2 RU/mL。

自制试剂盒与市售试剂盒线性范围 2–500 RU/mL, 线性相关系数  $R^2$  值均不低于 0.99, 如图 1 所示。

对两种试剂盒进行重复性检测, 自制试剂盒在 100 RU/mL 时的批内变异系数为  $CV_{1a}=5.98\%$ , 在 500 RU/mL 时的批内变异系数为  $CV_{1b}=4.27\%$ 。市售试剂盒在 100 RU/mL 时的批内变异系数为  $CV_{2a}=3.85\%$ , 在 500 RU/mL 时的批内变异系数为  $CV_{2b}=1.31\%$ 。

表 1 三个不同批次自制试剂盒准确度检验

Table 1 A test about accuracy of 3 different batches homemade kits

Kit lot number	OD value	Concentration (RU/mL)	Average concentration (RU/mL)	$\bar{x}$ -theory of value (RU/mL)	Measured deviation (%)
150727	0.689	94.581 27	93.730 53	-6.269 47	-6.27
	0.691	95.012 03			
	0.675	91.598 30			
150803	0.767	93.710 85	94.172 09	-5.827 91	-5.83
	0.751	90.371 09			
	0.789	98.434 34			
150914	0.767	92.083 58	98.220 85	-1.779 15	-1.78
	0.802	99.802 97			
	0.815	102.776 00			

The theory of concentration represents the ideal positive control value, the positive control theoretical value of these boxes is 100 RU/mL.

表 2 三个不同批次市售试剂盒准确度检验

Table 2 A test about accuracy of 3 different batches commercial kits

Kit lot number	OD value	Concentration (RU/mL)	Average concentration (RU/mL)	$\bar{x}$ -theory of value (RU/mL)	Measured deviation (%)
E160821AD	0.732 0	104.586 056	101.258 085	1.258 085	1.26
	0.699 0	96.972 321			
	0.721 9	102.215 878			
E161010BH	0.938 0	93.715 206	95.118 724	-4.881 276	-4.88
	0.949 8	95.567 399			
	0.953 0	96.073 567			
E160204AH	0.906 9	98.136 572	97.441 879	-2.558 121	-2.56
	0.902 0	97.263 117			
	0.900 1	96.925 948			

表 3 三个不同批次自制试剂盒检测限检验

Table 3 A test about detectability of 3 different batches homemade kits

Kit lot number	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}+2s$	Detection limit (RU/mL)
150727	0.015 70	0.000 923	0.017 550	0.605 034
150803	0.016 00	0.001 835	0.019 670	0.702 500
150914	0.016 45	0.001 504	0.019 458	0.598 708

表 4 三个不同批次市售试剂盒检测限检验

Table 4 A test about detectability of 3 different batches commercial kits

Kit lot number	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}+2s$	Detection limit (RU/mL)
E160821AD	0.024 945	0.003 639	0.032 223	0.122 107
E161010BH	0.070 300	0.007 143	0.084 586	0
E160204AH	0.017 716	0.002 389	0.022 494	0

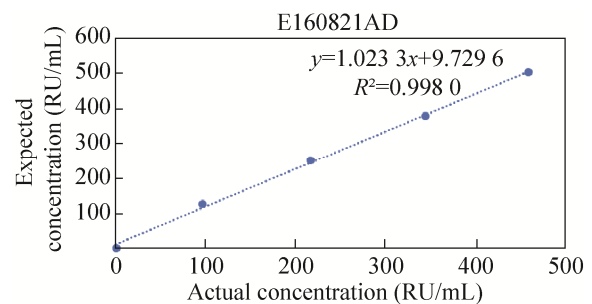
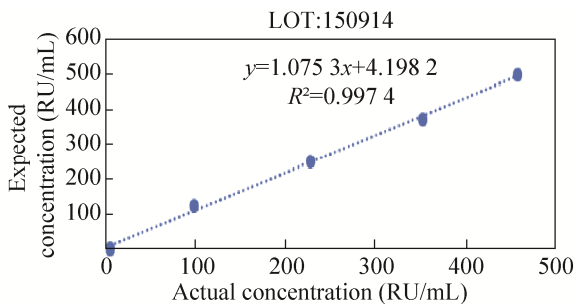
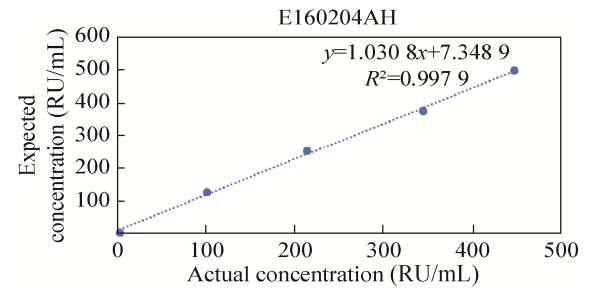
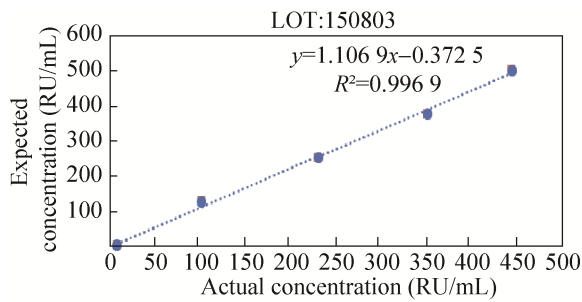
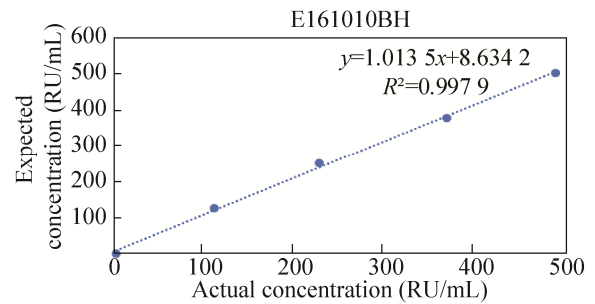
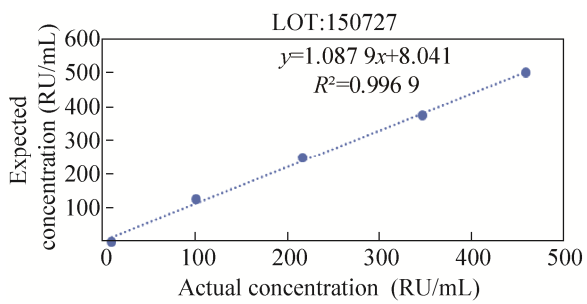


图 1 试剂盒线性评估

Fig. 1 Liner assessment for ELISA kit. The figure of "LOT:150727, LOT:150803, LOT:150914" represent liner assessment for homemade ELISA kits, while the "E160821AD, E161010BH, E160204AH" are liner assessment for commercial ELISA kits.

检测自制试剂盒批间差, 得出变异系数 CV1=7.95%, 市售试剂盒批间差 CV2=4.39%。两种试剂盒 3 个批间差均在 15% 以内。

试剂盒分别在 37 °C 恒温箱放置 6 d 后, 4 °C 贮存 365 d 后, 取试剂盒检测准确度、检测限、线性范围、重复性。结果见表 5, 试剂盒在 37 °C 恒温箱放置 6 d, 2-8 °C 放置 365 d 后, 试剂盒检测准确度、检测限、线性范围、重复性均符合要求。

## 2.2 与国外同类试剂盒对比

用 EUROIMMUN Anti-PLA2R ELISA 试剂盒和自制试剂盒同时测定 276 份 pMN 患者血清和 122 份非 pMN 组血清, 检测结果如表 6 所示。欧蒙试剂盒检测 pMN 患者血清敏感度为 51.81%, 特异性为 100%; 自制试剂盒检测敏感度为 50.36%, 特异度为 100%。自制试剂盒与市售商品化试剂盒比较, 阳性符合率 97.2%, 阴性符合率为 100%, 总体符合率有 98.9%, 两种试剂盒的差异不显著 ( $P=0.583$ ,  $P>0.05$ )。

## 2.3 血清抗 PLA2R 抗体阳性组与阴性组基本资料与实验室数据比较

2010-2016 年在我科住院并行肾穿刺活检病理和临床诊断, 共纳入符合标准的 pMN 患者 276 例, 以自制试剂盒测量抗体滴度, 其中抗 PLA2R 抗体阳性患者 139 例, 阴性患者 137 例, pMN 患者血

清抗 PLA2R 抗体阳性率为 50.36%。通过统计学分析发现阴性组与阳性组患者血清肌酐无统计学差异, 但阳性组患者年龄、尿蛋白定量高于阴性组患者, 阳性组患者血白蛋白低于阴性组 ( $P<0.05$ ) (表 7)。进一步分析抗 PLA2R 抗体滴度分别与尿蛋白、血白蛋白的相关性, 通过线性回归, 得到如图 2A、2B 所示散点图, 发现抗 PLA2R 抗体滴度与尿蛋白呈正相关, 与血白蛋白呈负相关。

## 3 讨论

有效鉴别 pMN 与 sMN 对于疾病治疗具有重要指导意义<sup>[5-6]</sup>。临床上, 当病理诊断是 MN 时, 如果能排除各种继发性病因, 则可作出 pMN 诊断。导致 MN 的继发因素常常复杂多变, 如某些肿瘤继发 MN, 有时甚至在 MN 发生后数月甚至数年后才表现出来, 这给临床排除继发病因带来较多困难; 再如膜性肾病合并乙型肝炎病毒感染与乙型肝炎病毒引起 sMN 鉴别, 很难通过病理或其他实验室检查得以鉴别<sup>[7-9]</sup>。鉴别 pMN 和 sMN 的特异性抗 PLA2R 抗体的出现无疑为临床医生带来新希望。研究发现, 超过 70% pMN 患者血清 PLA2R 抗体阳性, 而 sMN 患者则该抗体很少阳性; 且血清抗 PLA2R 抗体滴度变化先于尿蛋白变化, 与病情呈平行关系, 可指导临床调整治疗方案<sup>[10-14]</sup>。

表 5 自制试剂盒在不同温度放置不同时间后的稳定性评估

Table 5 Homemade kits stability assessment

Storage conditions	Precision (%)	Detectability	Coefficient of correlation	Repeatability
37 °C, 6 d	4.67	0.64	$R^2=0.995$	CV <sub>1</sub> =6.21% CV <sub>2</sub> =5.43%
4 °C, 90 d	2.77	0.70	$R^2=0.998$	CV <sub>1</sub> =5.38% CV <sub>2</sub> =10.58%
4 °C, 180 d	8.15	0.31	$R^2=0.991$	CV <sub>1</sub> =8.67% CV <sub>2</sub> =9.63%
4 °C, 270 d	4.04	0.86	$R^2=0.997$	CV <sub>1</sub> =6.71% CV <sub>2</sub> =8.89%
4 °C, 365 d	2.38	0.10	$R^2=0.989$	CV <sub>1</sub> =5.65% CV <sub>2</sub> =7.47%

表 6 自制试剂盒与注册试剂盒检测结果

Table 6 Comparison of the homemade kit and commercial kit

	Commercial kit		Homemade kit	
	Positive	Negative	Positive	Negative
pMN	143	133	139	136
Non-pMN	0	122	0	122

Non-pMN represents the group of other renal diseases and a general population.

本课题组研究发现在特发性膜性肾病患者中,血清抗体水平与蛋白尿水平呈正相关,与血清白蛋

白水平呈负相关,血清抗 PLA2R 抗体的检测有利于辅助病情的诊断与疾病严重情况的预测。本课题组自制 PLA2R 抗体试剂盒可定量检测患者血清抗 PLA2R 抗体,进而鉴别 pMN 和 sMN,该试剂盒具有准确、快捷的特性,为确诊 pMN 提供证据。同时可监测病人血清 PLA2R 抗体滴度水平,评估患者病情活动性,从而调整治疗方案。

评估该试剂盒基本性能发现,自制试剂盒诊断检测 pMN 敏感性 50.36%,特异性 100%,在 4 °C

表 7 血清抗 PLA2R 抗体阳性组与阴性组基本资料

Table 7 The baseline data of positive group and negative group

Clinical parameter	Anti-PLA2R antibody		P value
	Positive	Negative	
Case (n)	139	137	
Gender (Male/Female)	84/55	74/63	
Age (year)	44.33±15.44	38.45±12.86	< 0.05
Systolic BP (mmHg)	131.69±18.94	123.24±19.12	< 0.05
Diastolic BP (mmHg)	79.49±12.82	76.93±11.66	0.084
24 h proteinuria (g)	6.13±3.38	4.21±3.05	< 0.05
Serum albumin (g/L)	22.46±6.46	27.31±8.58	< 0.05
Serum creatinine (μmol/L)	76.13±26.91	77.11±45.46	0.827

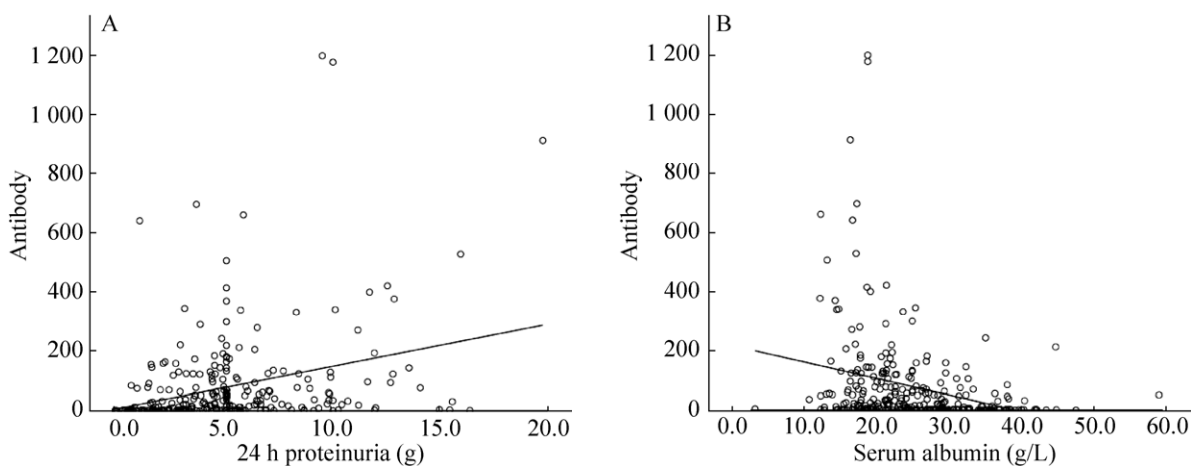


图 2 血清抗 PLA2R 抗体与 24 h 蛋白尿 (A) 和血清白蛋白 (B) 的关系

Fig. 2 Relationship between serum anti-PLA2R antibody and 24 h proteinuria (A), serum albumin (B).

保存 12 个月, 批间和批内稳定性良好, 能够满足临床需要。比较本试剂盒与目前市面上唯一注册产品 EUROIMMUN Anti-PLA2R ELISA 试剂盒符合率差异无统计学意义。但由于市售试剂盒购买受条件限制, 未进行两个试剂盒的稳定性比较, 需进一步完善。

由于抗 PLA2R 抗体 IgG 无国际约定参考测量程序和校准品, 因此我们用适当校准等级传递方案, 将校准品溯源至 EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG 的 Anti-PLA2R ELISA(IgG) 检测方法。虽然检测临床样本时有 4 份血清样本出现差异, 但整体符合率高度一致, 部分差异原因可能系两种试剂盒所选抗原片段部分不同所致。

综上所述, 依据自制试剂盒检测病人抗 PLA2R 抗体滴度水平, 不仅可区别 pMN 和 sMN, 还可预测患者病变活动性, 为提高 pMN 诊断准确率, 提高治愈率创造条件<sup>[15-16]</sup>。本试剂盒符合行业内相关标准, 与注册试剂盒比对结果高度一致, 差异无显著意义, 能满足临床应用需要。同时, 自制试剂盒操作简便、质量稳定, 填补了国内空白, 为 MN 患者提供了一种有效、可靠的检测方法。本研究也将进行更大样本量的验证, 寻求第三方验证, 以及临床前瞻性研究, 以进一步完善自制试剂盒的性能。

## REFERENCES

- [1] Song DX, Wang WT, Lin L, et al. Clinical significance of autoantibodies against phospholipase A2 receptor in adult patients with idiopathic membranous nephropathy. *Chin J Pract Internal Med*, 2015, 35(5): 414–418 (in Chinese).  
宋东旭, 王武涛, 林鹭, 等. 成人特发性膜性肾病血清抗 M 型磷脂酶 A2 受体抗体临床意义研究. *中国实用内科杂志*, 2015, 35(5): 414–418.
- [2] Xie LJ, Liao YH. The molecular pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy. *Chin J Kidney Dis Invest (Electronic Ed)*, 2015, 4(6): 33–39 (in Chinese).  
谢丽君, 廖蕴华. 特发性膜性肾病的分子发病机制. *中华肾病研究电子杂志*, 2015, 4(6): 33–39.
- [3] Beck LH Jr, Bonegio RGB, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*, 2009, 361(1): 11–21.
- [4] Wang Y, Wang Q, Zheng AP, et al. Diagnostic value of anti-phospholipase A2 receptor antibody in atypical membranous nephropathy. *Chin J Pract Int Med*, 2016, 36(11): 975–978 (in Chinese).  
王艳, 王琪, 郑爱萍, 等. 抗 M 型磷脂酶 A2 受体抗体诊断成人不典型膜性肾病价值研究. *中国实用内科杂志*, 2016, 36(11): 975–978.
- [5] VanBeek C, Haas M. Anti-PLA2R-associated membranous nephropathy: a review with emphasis on diagnostic testing methods. *Clin Nephrol*, 2015, 84(1): 1–9.
- [6] Xu X, Wang GB, Chen N, et al. Long-Term exposure to air pollution and increased risk of membranous nephropathy in China. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(12): 3739–3746.
- [7] Ronco P, Debiec H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care. *Lancet*, 2015, 385(9981): 1983–1992.
- [8] Segarra-Medrano A, Jatem-Escalante E, Quiles-Pérez 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. *Nefrologia*, 2014, 34(3): 353–359.
- [9] Timmermans SAMEG, Damoiseaux JGMC, Heerings-Rewinkel PTJ, et al. Evaluation of anti-PLA2R1 as measured by a novel ELISA in patients with idiopathic membranous nephropathy: a cohort study. *Am J Clin Pathol*, 2014, 142(1): 29–34.
- [10] Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: from models to man. *J Clin Invest*, 2014, 124(6): 2307–2314.
- [11] Francis JM, Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: a journey from bench to bedside. *Am J Kidney Dis*, 2016, 68(1): 138–147.



- [12] Hill PA, McRae JL, Dwyer KM. PLA2R and membranous nephropathy: A 3 years prospective Australian study. *Nephrology (Carlton)*, 2016, 21(5): 397–403.
- [13] Hoxha E, Harendza S, Pinnschmidt HO, et al. Spontaneous remission of proteinuria is a frequent event in phospholipase A2 receptor antibody-negative patients with membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(11): 1862–1869.
- [14] Kanigicherla D, Gummadova J, McKenzie EA, et al. Anti-PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int*, 2013, 83(5): 940–948.
- [15] Liu YP, Li C, Ma CQ, et al. Serum anti-PLA2R antibody as a diagnostic biomarker of idiopathic membranous nephropathy: the optimal cut-off value for Chinese patients. *Clin Chim Acta*, 2017, 476: 9–14.
- [16] Beck LH Jr. PLA2R and THSD7A: Disparate paths to the same disease? *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(9): 2579–2589.

(本文责编 郝丽芳)