

Research Progress of the Diagnostic Value of Serum Gd-IgA1 Molecule for IgAN

Minmin Zhu¹, Zhigang Ma^{2*}

¹Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou Gansu

²Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou Gansu

Email: *2927195869@qq.com

Received: Apr. 23rd, 2020; accepted: May 8th, 2020; published: May 15th, 2020

Abstract

IgA nephropathy (IgAN) is also known as Berger's disease. Berger and Hinglais first proposed it in 1968; it is the most common primary glomerulonephritis worldwide, and Asia is a high incidence area of IgA nephropathy, accounting for 38% to 58% of renal biopsy patients in China, and it has been increasing year by year. The pathogenesis of IgAN is still unclear, but a large number of studies have shown that the pathogenesis of IgAN is closely related to the formation of Gd-IgA1 molecules. Therefore, the level of serum Gd-IgA1 is measured by non-invasive methods to explore its pathogenesis. The relationship between them is very important and will also provide new ideas for the treatment of IgAN. This article describes the relationship between the pathogenesis of IgAN and Gd-IgA1.

Keywords

IgA Nephropathy, Gd-IgA1 Levels, Renal Biopsy

血清Gd-IgA1分子对IgAN诊断价值的研究进展

朱敏敏¹, 马志刚^{2*}

¹甘肃中医药大学, 甘肃 兰州

²甘肃省人民医院, 甘肃 兰州

Email: *2927195869@qq.com

收稿日期: 2020年4月23日; 录用日期: 2020年5月8日; 发布日期: 2020年5月15日

*通讯作者。

摘要

IgA肾病(IgAN)又称Berger's病, 由J. Berger和Hinglais于1968年首次提出, 它是全世界范围内最常见的原发性肾小球疾病, 也是导致终末期肾脏病(ESRD)最常见的病因, 亚洲是IgAN的高发区, 在我国占肾活检患者的38%~58%, 并呈逐年递增的趋势, 目前IgAN的发病机制仍不清楚, 但是大量研究表明IgAN的发病机制与Gd-IgA1分子的形成密切相关, 因此通过无创的手段测定血清Gd-IgA1的水平, 探索其与IgAN发病之间的联系至关重要, 也将为IgAN的诊断、治疗提供新的思路, 本文就IgAN发病机制与Gd-IgA1之间的关系进行阐述。

关键词

IgA肾病, 血清Gd-IgA1水平, 肾活检

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

IgA 肾病是全世界范围内乃至中国最常见的原发性肾小球疾病, 也是导致慢性肾脏病及终末期肾脏病最常见的病因之一, 该病具有很强的异质性, 不同的患者其临床表现、病理表现以及疾病进展的速度、预后也不同, 因此其治疗也无统一性[1]。目前 IgA 肾病确诊的手段主要是肾穿刺活检术, 但是该方法是创伤性的检查不宜反复进行, 也不能通过最初的肾活检结果来评估疾病进展的程度, 因此寻求一种简洁且特异性的生物标志物用以诊断 IgAN, 并且评估疾病进展程度是有必要的[2]。目前 IgAN 的发病机制仍不清楚, 近来诸多研究表明该病发病机制涉及多重打击学说, 但诸多研究已证明 Gd-IgA1 的形成在 IgAN 的发病中起着关键作用[3]。IgA 分子有 IgA1 和 IgA2 两个亚型, 均可以单体(mIgA)和多聚体(pIgA)形式存在[4], pIgA 主要沉积在系膜区, 认为是最有可能的致病形式。IgA1 分子重链 CH1 和 CH2 之间有一个 13 氨基酸组成的铰链区[5]-[10], 每个铰链区有多个 O-聚糖位点, 主要由丝氨酸和苏氨酸组成。正常的糖基化过程包括以下几个步骤: 首先, 在高尔基体中尿苷二磷酸-GalNAc 中的 GalNAc 在 N-乙酰半乳糖转移酶(GalNAcT)作用下转移至 IgA 分子铰链区丝氨酸或苏氨酸的羟基上, 形成 O-连接。而后半乳糖(Gal)在 β -1,3 半乳糖转移酶(C1GalT1)及其分子伴侣 Cosmc 作用下连接到 GalNAc 上, 最后唾液酸在 α 2,6-唾液酸转移酶(ST6GalNAcII)作用下连接到 Gal 或 GalNAc 上, 形成带负电荷的 O-聚糖结构[11]-[17]。这种 O 聚糖占据 IgA1 分子重链上的重要位点, 并与 Fc 受体的配体邻近, 此结构对于维持 IgA1 分子构象, 保护铰链区免受蛋白酶降解有重要生理意义, IgA1 分子糖基化异常指半乳糖与 GalNAc 连接障碍, 使得 O-糖链 GalNAc 半乳糖基化降低, 导致 GalNAc 半乳糖基化或唾液酸化的糖基减少, 而单糖型的糖基增多。Gd-IgA1 产生主要与糖基化过程中关键酶的活性降低、粘膜免疫应答异常、补体的活化、环境因素等有关[18] [19]。

宋轻雷等[20]发表了一项回顾性研究, 纳入 IgAN 患者 40 例, 非 IgAN 型原发性肾小球疾病患者(包括膜性肾病、微小病变性肾病、局灶节段性肾小球硬化症) 20 例, 健康体检者 20 例, 采用 ELISA 方法测定血清 Gd-IgA1 水平, 结果显示血清 Gd-IgA1 诊断 IgAN 的 ROC 曲线下面积为 0.886, 截点为 662.5 U/mL,

相比非 IgAN 组、健康对照组, IgAN 组血清 Gd-IgA1 水平最高, 而非 IgAN 组、健康对照组血清 Gd-IgA1 水平无显著差异, 且在 IgAN 组中, 血清 Gd-IgA1 随 Lee 分级增加而升高, 提示血清 Gd-IgA1 可作为 IgAN 的一个辅助诊断标准并可在一定程度上反映 IgAN 患者肾脏病理改变的严重程度。Z Moldoveanu 等人[21]最早开发了 HAA 凝集素结合实验法测定血清 Gd-IgA1 水平, 该研究纳入 153 例明确诊断为 IgAN 的高加索人, 153 例健康白人, 收集入组患者在肾活检后的血标本, 时间点不定, 收集 IgAN 组患者尿蛋白/肌酐、血肌酐、血清 IgA、eGFR 等临床指标, 在健康对照组尿蛋白/肌酐 > 0.2 或 Egfr (采用 MDRD 公式计算) 小于 $60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ 者排除, 采用 HAA 凝集素结合实验法测定血清 Gd-IgA1 及 IgA 水平, 与健康对照组相比, 上述指标在 IgAN 组均较高 ($P < 0.0001$), 通过 ROC 曲线评价血清 IgA 及 Gd-IgA1 诊断 IgAN 的敏感性 & 特异性, 结果显示: 当血清 Gd-IgA1 $> 1076 \text{ U/ml}$ 时, 诊断的特异性为 90%, 敏感性为 75.8%, 当血清 IgA $> 4761 \text{ ug/ml}$ 时, 其诊断特异性为 90%, 敏感性 32.7%, 当血清 Gd-IgA1 $> 394 \text{ U/mgIgA}$ 时, 其诊断的特异性为 90%, 敏感性为 61.4%, 并且血清 Gd-IgA1 水平与肾穿后取得血标本的时间间隔无关, 此外, 还得出血清 Gd-IgA1 与 IgA 呈正相关, 与尿蛋白/肌酐、血肌酐、eGFR 无关, 此项研究提示血清 Gd-IgA1 水平并不能反应白种人 IgAN 患者肾功能损伤严重程度, 但是仍然可作为 IgAN 患者的辅助诊断, 且灵敏性高于 IgA。Kai Zhang [22] 等人发表了一篇回顾性研究, 该研究纳入 75 例在天津医科大学总医院经肾活检明确诊断为 IgAN 者 75 例, 收集肾活检时患者的性别、年龄、血压、24UPO、eGFR (采用 EPDI 公式计算所得)、总血清 IgA、尿酸(UA), 记录肾脏的病理分型(牛津分型), 并纳入健康体检者 80 例, 收集所有入组者血标本, 采用 KM-55 这一单克隆抗体构建的 ELISA 试剂盒测定血清 Gd-IgA1 水平, 并且采用 KM-55 对系膜区的 Gd-IgA1 进行染色, 得出以下结论, 肾活检时平均尿蛋白水平 1.8 g/d , 总 IgA 平均水平 330.97 mg/dL , IgAN 组血清 Gd-IgA1 水平 ($11.09 \pm 4.87 \text{ ug/mL}$) 高于健康对照组 ($7.20 \pm 4.00 \text{ ug/mL}$, $P < 0.001$)。IgAN 组以血清 Gd-IgA1 中位数为临界点 ($11.09 \pm 4.87 \text{ ug/mL}$), 分为 $> 10.32 \text{ ug/ml}$, $< 10.32 \text{ ug/ml}$ 两组, 结果提示血清 Gd-IgA1 水平较高组, 血清 IgA、UA 相对较高, 而 eGFR、24upo、尿液红细胞、白蛋白、血肌酐、肾脏病理分型两组间无显著差异, 血清 Gd-IgA1 与 Bb、C3a、C4d、MAC 呈正相关, 此外 IgAN 组肾脏系膜区 Gd-IgA1 阳性, 健康对照组系膜区 Gd-IgA1 阴性, 并且高水平的血清 Gd-IgA1 与系膜区沉积的 Gd-IgA1 有关, 虽然这种相关性不显著。该研究结果提示血清 Gd-IgA1 与肾功能损伤程度无关, 而与血清总 IgA、UA 呈正相关。Clarissa A. Cassol 等人[23]发表了一篇回顾性的研究, 主要比较原发性 IgAN 与葡萄球菌感染相关性肾炎(SAGN)临床资料以及病理资料的异同点, 纳入 100 例有肾活检指征的患者并且肾小球有 IgA 的沉积, 包括原发性 IgAN、继发性 IgAN (肝脏疾病、银屑病、炎症性肠病)、SAGN、狼疮性肾炎, 上述患者均行肾活检, 收集其临床及病理资料, 并采用 KM-55 对肾脏病理标本进行染色, 得出结论不仅仅是原发性 IgAN 系膜区有 Gd-IgA1 的沉积, 继发性 IgAN、SANG 系膜区 Gd-IgA1 染色均是阳性, 且染色强度在原发性 IgAN 组相比狼疮性肾炎组及 SANG 组, 原发性 IgAN 组系膜区 Gd-IgA1 染色强阳性, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 因此笔者认为单纯的肾小球系膜区 Gd-IgA1 染色阳性不足以诊断原发性 IgAN。Yan-feng Zhao [24] 等人发表了一篇关于血清 Gd-IgA1 与其特异性抗体 IgG 形成的循环免疫复合物在 IgAN 发病机制中的作用, 纳入 IgAN 患者 35 例, 健康对照组 17 例, 利用半乳糖缺陷的 IgA1 分子和来自不同个体的 IgG, 在体外制备了 IgG-ddIgA1 复合物, 比较这些免疫复合物对系膜细胞的增殖和炎症作用的生物学差异, 采用凝集素酶联免疫吸附法检测体外制备的 ddIgA1 分子的糖基化状态, Western blot 检测 IgG-ddIgA1 复合物中是否存在 dd-IgA1 和 IgG。收集所有入组患者的血肌酐、血尿、eGFR、尿蛋白/肌酐等临床指标, 得出结论 IgAN 组及健康对照组循环中均可检测到 IgG-Gd-IgA1, 且这种循环免疫复合物可引起系膜细胞的增殖以及上调炎症因子 IL-6、MCP-1、CXCL1 等的表达, 并且得出诱导系膜细胞增殖的水平, IgAN 组高于健康对照组 ($1.10 \pm 0.05 \text{ vs } 1.03 \pm 0.03$; $P < 0.001$), 然而, IgG-ddIgA1 刺激的系膜细胞分泌的炎症因子水平与健康对照组相当 (MCP-1: $3701.1 \pm 2199.9 \text{ pg/ml vs}$

3373.9 ± 1465.6 pg/ml, $p = 0.528$; IL-6: 103.2 (81.5 ± 277.4) pg/ml vs. 143.9 (108.2 ± 248.6) pg/ml, $p = 0.315$; CXCL1: 1762.3 ± 934.0 pg/ml vs. 1575.8 ± 582.3 pg/ml; $p = 0.383$)。通过以上数据得出来自 IgAN 患者的糖特异性 IgG 抗体具有诱导系膜细胞增殖的生物学效应。并且证明了血清 Gd-IgA1 分子具有致病作用。此外, 在本研究中, 我们还发现了一种致病的 IgG-ddIgA1 复合物的体外制备方法, 可用于今后探索 IgAN 发病机制的研究。Yukihiro Wada [25] 等人发表了一篇回顾性研究的报道, 旨在阐明 Gd-IgA1 分子与 IgA 肾病患者临床及其肾脏病理改变之间的联系, 本研究纳入 111 名经肾活检明确诊断为 IgAN 的日本患者, 29 例狼疮性肾炎(LN)患者, 18 例过敏性紫癜(HSPN)患者, 18 例 ANCA 相关性血管炎(AAV)患者, 18 例微小病变肾病(MCD)患者, 收集上述入组患者肾活检时血标本, 采用 ELISA 测定血清 Gd-IgA1 水平, 并且采用 KM-55 对系膜区沉积的 Gd-IgA1 进行免疫荧光染色。得出以下结论, 血清 Gd-IgA1 (s-Gd-IgA1) 水平在 IgAN 组和 HSPN 组之间水平相当, 但是与 LN、AAV 和 MCD 相比, IgAN 患者的 s-Gd-IgA1 水平明显升高(IgAN vs. HSPN, LN, AAV, and MCD: 16.2 ± 9.1 vs. 14.2 ± 10.8, $p = 0.263$; 12.7 ± 9.4, $p = 0.008$; 13.1 ± 7.3, $p = 0.059$; and 8.2 ± 4.8 μg/mL, $p < 0.001$)。而 s-Gd-IgA1 在 LN、AAV、MCD 间无明显差异。在 IgAN 与 HSPN 中特异性检测到系膜区 Gd-IgA1 (m-Gd-IgA1) 沉积, s-Gd-IgA1 升高与 IgAN 患者 m-Gd-IgA1 阳性率显著相关($p = 0.004$), 组织病理学进展期 IgAN 患者 s-Gd-IgA1 升高、m-Gd-IgA1 沉积明显, 但是, 无论是 MCD 还是 LN, m-Gd-IgA1 染色都很微弱。此外, 在 IgAN 组中血清 Gd-IgA1 水平在肾小球硬化和肾小管间质病变中显著升高。IgAN 组中, 系膜区 Gd-IgA1 强度与 eGFR 呈负相关, 通过以上研究结果, 笔者认为, 虽然 IgAN 和 HSPN 仍然难以鉴别, 但 xs-Gd-IgA1 升高和 m-Gd-IgA1 沉积是反映 IgAN 严重程度的可靠诊断因素。血清-gd-IgA1 可作为 IgAN 肾脏预后的预测指标。

2. 总结

由于 IgA 肾病发病率呈现逐年递增的趋势, 也是导致终末期肾脏病最常见的原因之一, 因此探索血清 Gd-IgA1 水平对 IgAN 的诊断价值以及与其临床指标及病理改变之间的关系, 早期测定血清 Gd-IgA1 水平, 以达到对疾病的早期诊断、干预、及改善预后是有重大意义的。但是, 仍然需要进一步扩大样本量、纳入不同治疗阶段的患者并对患者进行长期随访等进一步研究。因此, 通过早期测定血清 Gd-IgA1 水平可以达到对疾病进展程度的评估的目的。

参考文献

- [1] Berger, J. and Hinglais, N. (1968) Intercapillary Deposits of IgA-IgG. *Journal Durologie Et De Nephrologie*, **74**, 694.
- [2] Reily, C., Ueda, H., Huang, Z.Q., et al. (2014) Cellular Signaling and Production of Galactose-Deficient IgA1 in IgA Nephropathy, an Autoimmune Disease. *Journal of Immunology Research*, **2014**, Article ID: 197548. <https://doi.org/10.1155/2014/197548>
- [3] Lai, K.N., Tang, S.C.W., Schena, F.P., et al. (2016) IgA Nephropathy. *Nature Reviews Disease Primers*, **2016**, 16001. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.1>
- [4] Xu, L., Liu, Z.-C., Guan, G.-J., et al. (2014) Cyclosporine A Combined with Medium/Low Dose Prednisone in Progressive IgA Nephropathy. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **30**, 390-395.
- [5] 张慧, 潘薇, 林佳如, 等. IgA 肾病无创性诊断:异常糖基化 IgA1 及其相关生物标志物的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015(10): 91-93.
- [6] Suzuki, H., Kiryluk, K., Novak, J., et al. (2011) The Pathophysiology of IgA Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, **22**, 1795-1803. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011050464>
- [7] Robert, T., Berthelot, L., Cambier, A., et al. (2015) Molecular Insights into the Pathogenesis of IgA Nephropathy. *Trends in Molecular Medicine*, **21**, 762-775. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.10.003>
- [8] Suzuki, Y., Matsuzaki, K., Suzuki, H., et al. (2014) Serum Levels of Galactose-Deficient Immunoglobulin (Ig) A1 and Related Immune Complex Are Associated with Disease Activity of IgA Nephropathy. *Clinical & Experimental Nephrology*, **18**, 770-777. <https://doi.org/10.1007/s10157-013-0921-6>

- [9] Gale, D.P., Molyneux, K., Wimbury, D., *et al.* (2017) Galactosylation of IgA1 Is Associated with Common Variation in C1GALT1. *Journal of the American Society of Nephrology*, **28**, 2158-2166. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016091043>
- [10] Suzuki, H., Raska, M., Yamada, K., *et al.* (2014) Cytokines Alter IgA1 O-Glycosylation by Dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II Enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, **289**, 5330-5339. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.512277>
- [11] He, L., Liu, H. and Peng, Y. (2014) Immune Pathogenesis of IgA Nephropathy and Its Drugable Targets. *Journal of Central South University. Medical Sciences*, **39**, 96-101.
- [12] Suzuki, H., Yasutake, J., Makita, Y., *et al.* (2018) IgA Nephropathy and IgA Vasculitis with Nephritis Have a Shared Feature Involving Galactose-Deficient IgA1-Oriented Pathogenesis. *Kidney International*, **93**, 700-705. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.10.019>
- [13] Coppo, R. (2017) Biomarkers and Targeted New Therapies for IgA Nephropathy. *Pediatric Nephrology*, **32**, 725-731. <https://doi.org/10.1007/s00467-016-3390-9>
- [14] Moldoveanu, Z., Wyatt, R.J., Lee, J.Y., *et al.* (2007) Patients with IgA Nephropathy Have Increased Serum Galactose-Deficient IgA1 Levels. *Kidney International*, **71**, 1148-1154. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002185>
- [15] 刘翔, 任红旗. 肠肾连接与 IgA 肾病[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015(9): 842-844.
- [16] 汪力, 综述, 王少清, 审校. 肾病的发病机制及治疗进展[J]. 医学综述, 2015(15): 2712-2714.
- [17] 戴好. 半乳糖缺陷 IgA1 (Gd-IgA1)在 IgA 肾病发病机制中的作用[D]: [博士学位论文]. 北京: 北京协和医学院, 2019.
- [18] Chu, K.-H. and Chiang, B.-L. (2011) Regulatory T Cells Induced by Mucosal B Cells Alleviate Allergic Airway Hypersensitivity. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **46**, 651-659. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2011-0246OC>
- [19] Kiryluk, K., Li, Y., Seolari, F., *et al.* (2014) Discovery of New Risk Loci for IgA Nephropathy Implicates Genes Involved in Immunity against Intestinal Pathogens. *Nature Genetics*, **46**, 1187-1196. <https://doi.org/10.1038/ng.3118>
- [20] 宋轻雷, 刘颖, 刘乃全, 杨柳, 刘大军. 血清异常糖基化 IgA1 在 40 例 IgA 肾病诊断中的应用价值研究[J]. 中国实用内科杂志, 2019, 39(3): 270-273.
- [21] 邹敏书, 余健, 聂国明, 等. 肾病及过敏性紫癜性肾炎患儿血清半乳糖缺乏 IgA1 测定的临床意义[J]. 华南国防医学杂志, 2012, 26(6): 542-544, 556.
- [22] 李雪英, 樊均明, 杨满, 等. IgA 肾病自身免疫发病机制研究进展[J]. 中西医结合肾病杂志, 2013(12): 75-77.
- [23] Moldoveanu, Z., Wyatt, R.J., Lee, J.Y., *et al.* (2007) Patients with IgA Nephropathy Have Increased Serum Galactose-Deficient IgA1 Levels. *Kidney International*, **71**, 1148-1154. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002185>
- [24] Zhao, Y.F., Zhu, L., Liu, L.J., *et al.* (2017) Pathogenic Role of Glycan-Specific IgG Antibodies in IgA Nephropathy. *BMC Nephrology*, **18**, 301. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0722-3>
- [25] Placzek William, J., Yanagawa, H., Makita, Y., *et al.* (2018) Serum Galactose-Deficient-IgA1 and IgG Autoantibodies Correlate in Patients with IgA Nephropathy. *PLoS ONE*, **13**, e0190967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190967>