



M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor- Autoantikörper

Akronym	anti-PLA2R
Indikationen	<ul style="list-style-type: none">▶ Idiopathische membranöse Glomerulonephritis (IMGN)▶ Differenzialdiagnose idiopathischer und sekundärer membranöser Nephropathien▶ Differenzialdiagnose bei nephrotischen Syndromen
Siehe auch	<ul style="list-style-type: none">▶ <u>Autoantikörper bei Glomerulopathien</u>

Die idiopathische membranöse Glomerulonephritis (IMGN) zeichnet sich immunhistologisch durch granuläre Ablagerungen von Immunglobulinen und Komplementproteinen (Immunkomplexen) an der subepithelialen Seite der glomerulären Basalmembran aus (Abbildung 1A) und unterscheidet sich dadurch deutlich von der, durch homogene Immunglobulinablagerungen an der Basalmembran gekennzeichneten autoimmunen Glomerulonephritis, der Antibasalmembranglomerulonephritis (Abbildung 1B). Da sich aber im Serum der Patienten mit IMGN keine

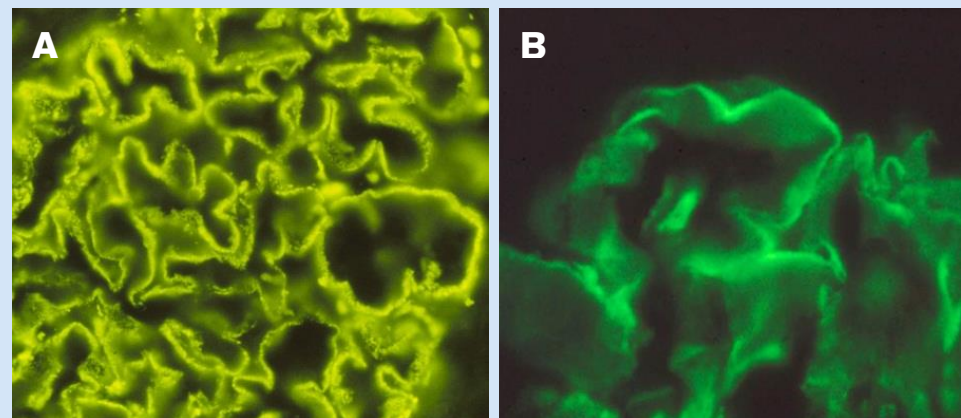


Abbildung 1

A Idiopathische membranöse Glomerulonephritis, Glomerulus mit granulären subepithelialen Immunkomplexablagerungen.

B Antibasalmembranglomerulonephritis mit homogenen, linearen Ablagerungen von Basalmembranantikörpern an der Glomerulusbasalmembran.

Direkter Immunfluoreszenztest, anti-human-IgG, FITC, Objektivvergrößerungen 40-fach

zirkulierenden Immunkomplexe, wie z. B. bei der Lupus- oder Poststreptokokkennephritis nachweisen ließen, vermutete man, dass die Immunkomplexe *in situ* an der Basalmembran entstehen. Ausgehend von der Heymann-Nephritis der Ratte, bei der Autoantikörper gegen das in den Podozyten gebildete Megalin *in situ* glomeruläre Immunkomplexe induzieren (Übersicht: Ronco und Debiec 2010), wurde bei Patienten mit IMGN nach einem analogen immunpathogenetischen Prinzip, d. h. nach Autoantikörpern gegen ein noch unbekanntes, möglicherweise ebenfalls in den Podozyten exprimiertes Autoantigen gefahndet. Es konnte gezeigt werden, dass bei der Mehrzahl dieser Patienten Autoantikörper gegen den in den Podozyten exprimierten M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor vorliegen (Beck et al. 2009), welche mit dem ortsständig freigesetzten Autoantigen Immunkomplexe bilden, die eine Entzündungsreaktion auslösen in deren Gefolge die für die IMGN charakteristischen morphologischen und funktionellen Läsionen entstehen.

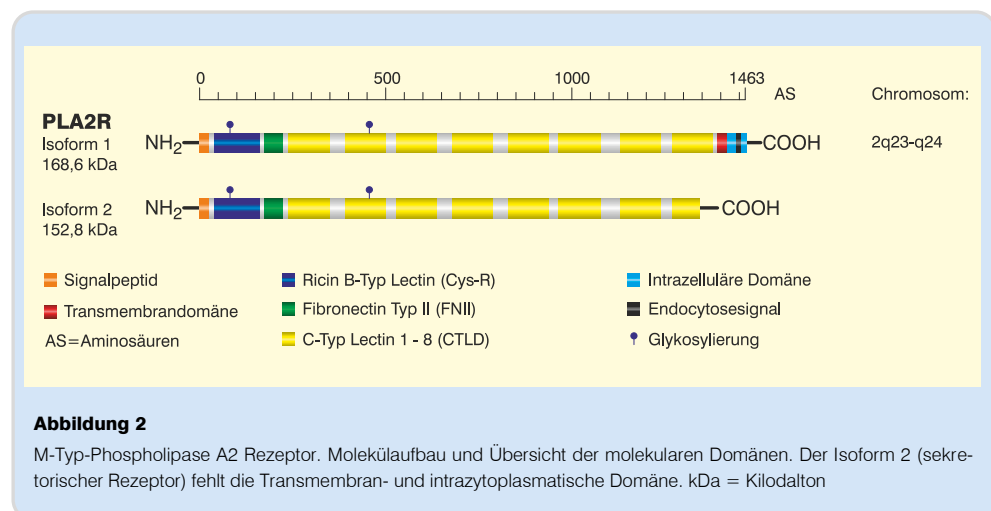


M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor- Autoantikörper

Antigen

Der M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor 1 (PLA2R; **M** bezeichnet die erstmalige Isolierung des Rezeptors aus **M**uskelgewebe im Gegensatz zu dem strukturell unterschiedlichen, aus **N**euronen isoliertem **N**-Typ-Rezeptor; Nicolas et al. 1997) gehört zu einer Gruppe von vier bei Säugern vorkommenden Mannoserezeptoren (PLA2R1, Endo180, DEC-205, Mannoserezeptor; East et al. 2002; Lambeau et al. 1999; Llorca 2008). Er bindet mit unterschiedlicher Affinität (Ancian et al. 1995) sezernierte Phospholipasen vom Typ A2, welche die am β -C-Atom von Phosphoglyceriden gebundenen Fettsäuren hydrolysieren (z. B. Prostaglandinsynthese, Freisetzung von Arachidonsäure aus Membranlipiden).

Der PLA2R ist ein Typ 1-Transmembranglykoprotein in dessen extrazellulärem Segment sich eine N-terminale cysteinreiche Domäne (Cys-R), eine solitäre Fibronectin Typ II-Domäne (FNII) und acht C-Typ lektinähnliche Domänen (CTLD) vorfinden (Abbildung 2). Das Rezeptormolekül kann sowohl eine offene Konformation einnehmen, bei der die N-terminale Domäne (Cys-R) außen liegt, als auch eine geschlossene, bei der sich der N-Terminus zurückfaltet und an eine CTL-Domäne in der Molekülmitte bindet. Diese Konformationsänderungen dienen möglicherweise der Regulation der Interaktionen mit Liganden und der Oligomerisation (Llorca 2008). Ein kürzeres, alternativ gespleißtes Transkript stellt möglicherweise eine lösliche Form des Rezeptors dar (Ancian et al. 1995).



Unter physiologischen Bedingungen wird PLA2R hauptsächlich in den basalen Segmenten der glomerulären Podozytenmembran exprimiert (Beck et al. 2009) wo er einem endozytotischen Rezyklierungsprozess unterliegt (Zvaritch et al. 1996) und somit auch für im Blut zirkulierende Autoantikörper akzessibel wird. Weitere Expressionsorte sind Lunge und Leukozyten (Silliman et al. 2002; Garanta et al. 2005). Die genaue physiologische Bedeutung des Rezeptors in den Podozyten ist noch nicht geklärt (Rouallt et al. 2007).

Autoantikörper

Autoantikörper gegen PLA2R finden sich bei 70 - 82 % der Patienten mit IMGN (Beck et al. 2009; Hofstra et al. 2011; Qin et al. 2011). Sie konnten auch aus den an den Basalmembranen abgelagerten Immunkomplexen eluiert werden. Zum überwiegenden Anteil gehören die Autoantikörper der Subklasse IgG₄ an, weniger häufig und auch in niedrigerer Konzentration sind andere IgG-Subklassen (IgG₁) vertreten. Dies korreliert mit immunhistologischen Ergebnissen an Nierenbiopsien, die zeigten, dass die glomerulären Immunglobulinpräzipitate vorwiegend IgG₄ enthielten (Doi et al. 1984; Haas 1994). Es konnte gezeigt werden, dass die Anwesenheit und die Konzentration der Autoantikörper mit der Krankheitsaktivität korrelieren. Nach 12-monatiger Behandlung mit Rituximab waren bei 68 % der Patienten die Antikörper zurückge-



M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor-Autoantikörper

gangen oder ganz verschwunden, gleichzeitig zeigte sich eine klinische Besserung mit kompletten oder inkompletten Remissionen (Beck et al. 2011). Die Spezifität der Antikörper für die IMGN wurde mit 89 % angegeben (Qin et al. 2011); sie ließen sich bei Patienten mit nicht idiopathischen Formen der membranösen Nephropathie oder anderen Zuständen mit nephrotischen Syndrom nur selten nachweisen (1/20 LE, 1/16 Hepatitis B, 3/10 Tumorprieten mit MGN; Beck et al. 2009, Qin et al. 2011).

Die immunreaktiven Epitope innerhalb des PLA2R konnten bisher noch nicht eindeutig identifiziert werden. Fest steht, dass die Antikörper mit einem gegenüber reduzierenden Substanzen empfindlichen Konformationsepitop reagieren, d. h. es müssen intakte Disulfidbrücken vorliegen, die das Epitop stabilisieren, möglicherweise analog zu dem von Basalmembran-Autoantikörpern erkannten Epitop der nicht-kollagenen Domäne von Kollagen IV ($\alpha 3(\text{IV})\text{-NC1}$ -Domäne; siehe Glomerulusbasalmembran-Autoantikörper) (Hellmark et al 1999; Hudson 2004)

Immunpathologie

Man kann heute davon ausgehen, dass der IMGN, einer klassischen Immunkomplexerkrankung (Abbildung 1, 3), eine Autoimmunpathogenese zugrunde liegt, bei der im Gegensatz zu anderen Immunkomplexglomerulonephritiden, wie z. B. der Poststreptokokkennephritis, die Bildung der pathogenen Immunkomplexe vorwiegend *in situ* stattfindet. Die an der glomerulären Basalmembran ablaufende Immunkomplexreaktion kann eine komplementvermittelte Entzündungsreaktion auslösen, die Podozyten und Basalmembran schädigt, ähnlich wie es bei der experimentellen membranösen Nephropathie gezeigt werden konnte (Nangaku et al. 2005; Cybulsky et al. 2005). Denkbar wäre auch, dass die Autoantikörper an den zellständigen Rezeptor binden, agonistisch oder antagonistisch wirken und dadurch die Architektur der Podozyten und ihre Barrierefunktion verändern (Beck et al. 2009). Das Fehlen dieser Autoantikörper bei den nicht idiopathischen Formen der membranösen Glomerulonephritis und anderen Formen des nephrotischen Syndroms spricht dafür, dass die Autoantikörper selbst die Nierenläsionen auslösen, und nicht erst im Gefolge einer anderen Schädigung der Podozyten mit Freisetzung von Rezeptoren entstehen.

Dass PLA2R-Autoantikörper nicht bei allen Patienten mit IMGN nachweisbar sind, kann einerseits in einer mangelnden Epitoperkennung der Nachweisverfahren, andererseits in einem bereits zum Stillstand gekommenen oder einem vorübergehend inaktiven Immunprozess mit Restproteinurie liegen. Denkbar wäre auch, dass weitere Autoantikörper gegen andere glomeruläre Antigene eine IMGN auslösen, was z. B. die neonatale alloimmune membranöse Nephropathie verdeutlicht (Abbildung 3), bei der, infolge eines mütterlichen Gendefekts, mit fetomaternaler Immunisierung während der Schwangerschaft gebildete Antikörper gegen die ebenfalls in den Podozyten exprimierte neutrale Endopeptidase Glomerulusläsionen bei den Neugeborenen induzierten (Debiec et al. 2002, 2004, Ronco und Debiec 2010).

Klinik

Die häufigste Ursache des nephrotischen Syndroms ist die früher als idiopathisch bezeichnete (IMGN), heute aber als autoimmun erkannte (AMGN) membranöse Glomerulonephritis. Neben dieser autoimmunen Form kommen in geringerer Häufigkeit (ca. 20 %) andere auslösende Faktoren wie Tumore, Infektionen mit Hepatitisviren (HBV), Kollagenosen oder Medikamente z. B. Penicillamin in Betracht (sekundäre MGN). Die weltweit, überwiegend bei Erwachsenen auftretende Erkrankung kann in bis zur Hälfte der Fälle langsam (10 - 20 Jahre) in einer terminalen Niereninsuffizienz enden. Das bei schweren Verlaufsformen auftretende nephrotische Syndrom geht mit massivem Eiweißverlust durch die Nieren ($> 3,5 \text{ g} / 24 \text{ h}$), einer Senkung der Eiweißkonzentration im Blut, sowie Störungen des Fettstoffwechsels, Infektionsanfälligkeit, erhöhtem Thromboserisiko und kardiovaskulären Komplikationen einher.

Da die Diagnose membranöse Glomerulonephritis eine invasive Nierenpunktion mit folgender histologischer, immunhistologischer und gegebenenfalls elektronenmikroskopischer Untersuchung zum Nachweis der Immunkomplexe auf der Außenseite der glomerulären Basalmem-



M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor-Autoantikörper

bran erfordert, kann der jetzt mögliche Nachweis von krankheitsspezifischen Autoantikörpern gegen den M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor als erste orientierende und für den Patienten nicht belastende Differenzialdiagnostik sowie möglicherweise auch zur Beurteilung der Krankheitsaktivität und für die Planung therapeutischer Maßnahmen hilfreich werden (Übersichten: Segal und Choi 2012; Glassock 2012; Herrmann et al. 2012).

Heymann-Nephritis

● Megalin MG 521 kDa
Y anti-Megalin

Allo-immune MGM

● NEPase MG 85 kDa
Y anti-NEPase

Idiopathische MGM

● PA2R MG 164 kDa
Y anti-PA2R

Abbildung 3

Membranöse Glomerulonephritis durch *in situ* entstandene Immunkomplexe auf der subepithelialen Seite der Glomerulusbasalmembran (GBM).

Heymann-Nephritis der Ratte: Das in Vesikeln der Podozyten exprimierte Megalin (low-density lipoprotein receptor-related protein) findet sich auch im Bürstensaum der Tubulusepithelien. Die mit Extrakten aus Bürstensaum immunisierten Ratten bilden Antikörper gegen Megalin, die mit dem aus Podozyten freigesetzten Megalin reagieren und im subepithelialen Spalt als Immunkomplexe präzipitieren.

Bei der alloimmunen membranösen Glomerulonephritis reagieren in den Feten übergetretene mütterliche Antikörper mit der in der Podozytenmembran gebildeten neutralen Endopeptidase und führen ebenfalls zur Ablagerung subepithelialer Immunkomplexe. Die mütterlichen Antikörper entstehen, ähnlich wie bei der Rh-Inkompatibilität, infolge einer fetomaternalen Transfusion des Antigens bei Müttern mit Defektmutationen in dem enzymkodierenden Gen.

Die idiopathische membranöse Glomerulonephritis wird durch Autoantikörper gegen den in der Membran der Podozyten exprimierten M-Typ Phospholipase A2-Rezeptor ausgelöst. Die Ursache der Autoantikörperbildung ist bisher unbekannt. Die in den subepithelialen Spalt freigesetzten Immunkomplexe induzieren eine wahrscheinlich komplementvermittelte Entzündung, welche die Funktion und die Struktur der Podozyten und Basalmembran verändert wodurch die Selektion der Proteinschranke aufgehoben wird (nephrotisches Syndrom).

Verändert nach Ronco und Debiec (2010)

Nachweismethoden ► **Immunoblot:** Für den Nachweis der Autoantikörper wurden nicht denaturierende Immunoblotverfahren mit nativen glomerulären Proteinextrakten verwendet (Beck et al. 2009). Immunoblots wurden auch mit rekombinanten, aus transient transfizierten eukaryoten Kulturzellen (HEK, 293T) gewonnenem Rezeptorprotein durchgeführt (Qin et al. 2011).



M-Typ-Phospholipase A2-Rezeptor- Autoantikörper

- **IIFT:** Der immunfluoreszenzmikroskopische Nachweis der Antikörper kann mit in transient transfizierten Kulturzellen erfolgen, in denen die Rezeptorproteine exprimiert werden (Abbildung 4).

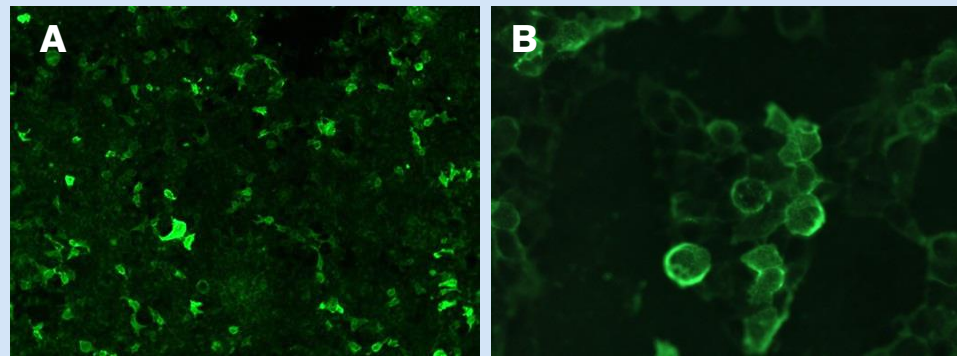


Abbildung 4

Nachweis von Autoantikörpern gegen den M-Typ-Phospholipase A2 Rezeptor mittels des indirekten Immunfluoreszenztest an transfizierten, humanen embryonalen Nierenzellen (HEK 293T).

Objektivvergrößerung: A 25-fach, B 100-fach

Literatur

Ancian P, Lambeau G, Mattéi MG, Lazdunski M. The human 180-kDa receptor for secretory phospholipases A2: molecular cloning, identification of a secreted soluble form, expression, and chromosomal localization. *J Biol Chem* (1995); 270: 8963 - 8970 (PMID: 7721806).

Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, Klein JB, Salant DJ. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. (2009); 361: 11 - 21 (PMID: 19571279).

Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM, Bonegio RG, Malik FA, Erickson SB, Cosio FG, Cattran DC, Salant DJ. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* (2011); 22: 1543 - 1550 (PMID: 21784898).

Cybulsky AV, Quigg RJ, Salant DJ. Experimental membranous nephropathy redux. *Am J Physiol Renal Physiol* (2005); 289: F660 - F671 (PMID: 16159900).

Debiec H, Guignonis V, Mougnot B, et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to antineutral endopeptidase antibodies. *N Engl J Med* (2002); 346: 2053 - 2060 (PMID: 12761235).

Debiec H, Nauta J, Coulet F, et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies. *Lancet*(2004); 364: 1252 - 1259 (PMID: 15464186).

Doi T, Mayumi M, Kanatsu K, Suehiro F, Hamashima Y. Distribution of IgG subclasses in membranous nephropathy. *Clin Exp Immunol* (1984); 58: 57 - 62 (PMID: 6383668).

East L, Isacke CM. The mannose receptor family. *Biochim Biophys Acta* (2002);1572: 364 - 86 (PMID: 12223280).

Glasscock RJ. The pathogenesis of membranous nephropathy: evolution and revolution. *Curr Opin Nephrol Hypertens* (2012); 21: 235 - 242 (PMID: 22388552).



M-Typ-Phospholipase A₂-Rezeptor-Autoantikörper

Granata F, Petraroli A, Boilard E, et al. Activation of cytokine production by secreted phospholipase A₂ in human lung macrophages expressing the M-type receptor. *J Immunol* (2005); 174: 464 - 474 (PMID: 15611272).

Haas M. IgG subclass deposits in glomeruli of lupus and nonlupus membranous nephropathies. *Am J Kidney Dis* (1994); 23: 358- 364 (PMID: 8128936).

Hellmark T, Burkhardt H, Wieslander J. Goodpasture disease: characterization of a single conformational epitope as the target of pathogenic autoantibodies. *J Biol Chem* (1999); 274: 25862 - 25868 (PMID: 10464328).

Herrmann SM, Sethi S, Fervenza FC. Membranous nephropathy: the start of a paradigm shift. *Curr Opin Nephrol Hypertens* (2012); 21: 203 - 210 (PMID: 22240444).

Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-phospholipase A₂ receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*(2011); 6: 1286 - 1291 (PMID: 21474589).

Hudson BG. The molecular basis of Goodpasture and Alport syndromes: beacons for the discovery of the collagen IV family. *J Am Soc Nephrol* (2004); 15: 2514 - 2727 (PMID: 15466256).

Lambeau G, Lazdunski M. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A₂. *Pharmacol Sci* (1999); 20: 162 - 170 (PMID: 10322502).

Llorca O. Extended and bent conformations of the mannose receptor family. *Cell Mol Life Sci* (2008), 65, 1302 - 1310. 12. Zvaritch E, Lambeau G, Lazdunski M. Endocytic properties of the M-type 180-kDa receptor for secretory phospholipases A₂. *J Biol Chem* (1996); 271: 250 - 257 (PMID: 18193159).

Nangaku M, Shankland SJ, Couser WG. Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* (2005); 16: 1195- 1204 (PMID: 15800119).

Nicolas JP, Ying Lin, Lambeau G, Ghomashchii F, Lazdunski M, Gelbi MH. Localization of structural elements of bee venom phospholipase A₂ involved in N-type receptor binding and neurotoxicity. *J Biol Chem* (1997); 272: 7173- 7181 (PMID: 9054413).

Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, Salant DJ, Liu Z. Anti-phospholipase A₂ receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* (2011); 22: 1137 - 1143 (PMID: 21566055).

Ronco P, Debiec H. Antigen identification in membranous nephropathy moves toward targeted monitoring and new therapy. *J Am Soc Nephro*(2010); 21: 564 -569 (PMID: 20185638).

Rouault M, Le Calvez C, Boilard E, et al. Recombinant production and properties of binding of the full set of mouse secreted phospholipases A₂ to the mouse M-type receptor. *Biochemistry* (2007); 46: 1647- 1662 (PMID: 17279628).

Segal PE, Choi MJ. Recent advances and prognosis in idiopathic membranous nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* (2012); 19: 114 - 119 (PMID: 22449349).

Silliman CC, Moore EE, Zallen G, et al. Presence of the M-type sPLA(2) receptor on neutrophils and its role in elastase release and adhesion. *Am J Physiol Cell Physiol* (2002); 283: C1102 - C1113 (PMID: 12225974).