

膜性腎症における自己抗体

Autoantibodies in membranous nephropathy

丸山 彰一 秋山 真一

Shoichi MARUYAMA and Shin'ichi AKIYAMA

はじめに

2009年米国のBeckらが一次性膜性腎症(MN)の原因抗原として、糸球体足細胞に発現するM-type phospholipase A2 receptor(PLA2R1)を同定し報告した。彼らは、PLA2R1に対する自己抗体(特にIgG4)が一次性MN患者の約7割に陽性となるが、二次性MNやその他の患者では検出されないことを示した。その後多くの追試がなされ、欧州やアジア各国から同様の結果が報告されている。さらに、血中のPLA2R1に対する自己抗体は一次性と二次性の鑑別、治療反応性、再発予測、治療効果の判定などに有用な新規バイオマーカーとなる可能性が示されている。しかし、これまでにPLA2R1に対する自己抗体がMNを引き起こすという直接的な証拠は得られていない。われわれの検討では、わが国のMN患者では抗PLA2R1抗体の陽性率が低いという結果を得ている。加えて、 α -enolase(ENO), neutral endopeptidase(NEP), aldose reductase(AR), manganese superoxide dismutase(SOD2)など、PLA2R1以外の足細胞蛋白質に対する自己抗体の存在も報告されている。本稿ではMNと自己抗体について概説する。

一次性MNにおける抗PLA2R1自己抗体

多くの研究者が探索を続けていたが成人の一次性MNの責任抗原はなかなか明らかにならなかった。そんななか、2009年ついにランドマークとなる成果が発表された。Beck, Salantらは、MN患者の血清と特異的に反応する糸球体由来蛋白質を探索していたが、Western blotで非還元下

でのみ反応する185-kDaの蛋白質を見出し、これがPLA2R1であると同定したのである¹⁾。彼らは、一次性MN患者の約70%の症例で抗PLA2R1 IgG4抗体が検出されたが、SLEをはじめとする二次性MNやその他の腎疾患の患者あるいは正常者血清では検出されなかったと報告している。この論文で彼らは、免疫染色によりPLA2R1が正常の足細胞の細胞質に発現していること、MN患者ではIgG4とPLA2R1が共局在すること、MN患者の糸球体から抽出したIgG4がリコンビナントPLA2R1蛋白を認識することを証明した。さらに、血中には抗PLA2R1自己抗体とPLA2R1蛋白の免疫複合体が検出されなかったことは、抗原抗体反応は腎糸球体基底膜上皮下局所で起こることを示しており、*in situ*仮説を支持する結果であった。

1. PLA2R1とは

PLA2R1分子に関しては、本邦のYokotaらが多くの研究を発表している²⁾。PLA2R1は分泌型phospholipase A2に反応する膜蛋白受容体であり、マンノース受容体ファミリーに属する。N末端から順にシステイン・リッチ部位、フィブロネクチン様タイプIIドメイン、8個のCタイプレクチンドメイン、膜貫通部位、そしてC末の細胞内ドメインから成る。PLA2R1は、細胞増殖作用、遊走能亢進、ホルモン分泌促進、エイコサノイド産生作用といった多彩な機能を有していることがわかっている。しかし、これまでに糸球体足細胞上のPLA2R1の生理学的・病理学的な意義に関してはほとんど解明されていない。

2. PLA2R1抗体の測定法

PLA2R1抗体の測定法として、Western blot法、間接蛍光抗体法、ELISA法が構築されており、われわれの研究グループでも各測定法を独自に開発して運用している。各測定法の性能上の特徴を表にまとめた。いずれの測定法でも、抗原としてPLA2R1蛋白質を、一次抗体として患者血清ま

表 抗 PLA2R1 抗体 の測定方法と特徴

	Western blot 法	細胞表面間接 蛍光抗体法	ELISA 法
抗原	ヒト糸球体ライセート ・ 組換え PLA2R1	培養細胞表面に 提示した組換え PLA2R1	精製した 組換え PLA2R1
定性性	◎	×	×
定量性	○	×	◎
検出感度	◎	○	○
操作性	△	◎	◎
1 バッチ当たりの アッセイ時間	4 時間	3 時間	3 時間
市販製品の有無	×	○	○

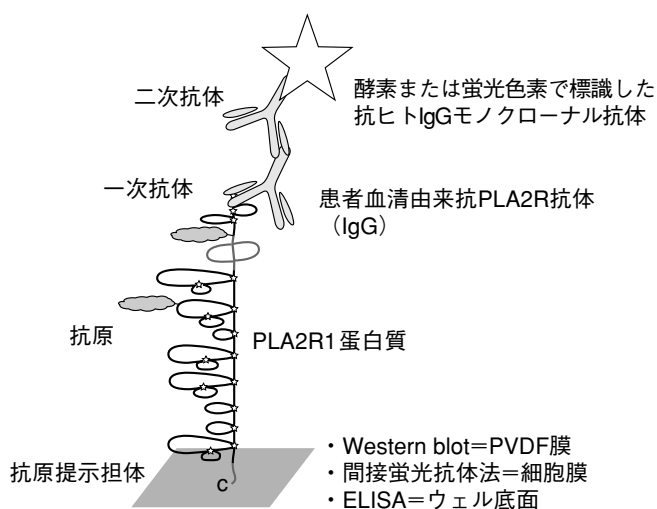


図 1 抗 PLA2R1 抗体 の測定原理

たは血漿を、二次抗体として酵素または蛍光色素標識した抗ヒト IgG 抗体を各々用いて PLA2R1 抗体を検出する(図 1)。

PLA2R1 抗体を検出するうえできわめて重要な要素として、抗原となる PLA2R1 蛋白質の立体構造がある。患者由来 PLA2R1 抗体は PLA2R1 のジスルフィド結合に支持された立体構造(立体エピトープ)を認識しており、患者由来 PLA2R1 抗体を還元条件下 Western blot 法で検出できないのはこの理由に基づいている。現在のところ、検出用抗原として利用できるのはヒト糸球体ライセートに含まれる PLA2R1 蛋白質と哺乳類細胞を宿主として発現させた組換え PLA2R1 蛋白質だけであり、前者は Western blot 法にて、後者は Western blot 法、間接蛍光抗体法、ELISA 法にて利用されている。現在のところ、抗 PLA2R 抗体を検出するうえで最も信頼性が高いのは定性性および検出感度ともに

Western blot 法であるが、Western blot 法は高度な手技の習得が必要で定量性に劣るため、より操作が簡便で定量性に勝る ELISA 法の技術改良が進行中である。

PLA2R1 抗体測定の話として、Euroimmun 社(ドイツ)が市販している PLA2R1 抗体測定用の間接蛍光抗体キットと ELISA キットが 2013 年 7 月より EU 以外の諸国への供給が開始された。現在、われわれの研究グループでは Euroimmun 社日本代理店と共同で、本キットの日本人患者での性能検証作業および測定プロトコルの最適化を進めており、性能上の問題がなければわが国においても市販される見通しである。一方 Hofstra は、測定法の違いによって一部の患者で検出特異性に不一致があること、すなわち、Euroimmun 社製間接蛍光抗体キットでは陽性となるのに Euroimmun 社製 ELISA キットでは陰性となるような結果の不一致症例が起こることを指摘している³⁾。今後、PLA2R1 抗体を特発性 MN のバイオマーカーとして利用していくためには、測定法の更なる性能向上と規格統一が期待される。

3. PLA2R1 抗体の陽性率

これまでに各国から PLA2R1 抗体の陽性率が報告されている。米国、オランダ、スウェーデンでは 60~80%、中国でも 80%と報告されている⁴⁾。最近の報告では、イランでも 74%であった⁵⁾。例外はドイツからの報告で、陽性率が 50%と比較的低かった。しかし、対象患者をネフローゼ症候群患者に限ると陽性率は 65%となる⁶⁾。10 件の研究、総計 1,550 例のメタ解析では、一次性 MN の診断に関して、血清 PLA2R1 抗体陽性であることは感度 69%、特異度 99%とされている⁷⁾。

われわれは、わが国の MN 患者における抗 PLA2R1 自己抗体に関する検討を進めている。これまでのところ諸外国

からの報告とは大きく異なり、抗体陽性率は約 50 %であった。原因として、遺伝的要因、環境因子、比較的軽症の段階で診断されるわが国特有の保険および健診制度、などが想定される。わが国の MN の予後や治療反応性は欧米に比較して良好であり、同じ MN の病理像を呈しているもその内容は異なる可能性がある。

最近、韓国の MN 患者 100 例の治療開始前血清が解析された⁸⁾。その結果、PLA2R1 抗体の陽性率は 69 %であったと報告されている。韓国における MN の治療実態や治療成績は本邦とよく似ており、治療反応性、腎予後ともに良好である⁹⁾。それにもかかわらず、わが国と韓国の PLA2R1 自己抗体陽性率に大きな差があるという事実は興味深い。世界の中で、わが国だけが例外のようである。こうしたわが国の独自性を探求することで MN に関する理解が深まることが期待される。

PLA2R1 抗体の臨床的意義

1. 血中 PLA2R1 抗体と病勢

MN 患者における PLA2R1 抗体の臨床的意義についても報告されている。ネフローゼ期に採取された検体における PLA2R1 抗体価を基礎値とした場合、それが尿蛋白の 1 日量と相関することが報告されている^{8,10)}。さらに、経過観察あるいは治療中の各時点での検体をすべてまとめてプロットしたところ、PLA2R1 抗体価がその時点での蛋白尿の量とよく相関していた¹⁰⁾。また、リツキシマブ治療の際には、PLA2R1 抗体は蛋白尿の寛解に先んじて減少あるいは消失する。MN 患者における腎移植に関しては、移植時に PLA2R1 に対する IgG4 抗体が陽性である患者では、その後 MN を発症し蛋白尿が出現する¹¹⁾。MN のネフローゼ期には抗体陽性であり、寛解期には陰性化、再発時には再度陽性化する。こうしたことから、抗 PLA2R1 抗体は鋭敏な病勢判定マーカーとして利用できることが提唱されている。例えば、蛋白尿の消失を待たず抗体消失をもって免疫抑制薬を減量あるいは中止することで、過剰な治療が抑制されることが期待される。

最近、Hoxha らが PLA2R1 抗体陽性の MN 患者 133 例を前向きに解析した結果を報告している¹²⁾。これまでの報告と同様、試験登録時の PLA2R1 抗体価(基礎値)は尿蛋白の基礎値と相関していた。しかし、その後の PLA2R1 抗体価に関しては、従来の報告と違い、その時点での蛋白尿レベルとは相関していなかった。免疫抑制薬を使用した MN 患者 95 例を解析したところ、やはり蛋白尿の減少に先立っ

て PLA2R1 抗体価の低下が観察された。3 カ月時点では、PLA2R1 抗体価は 69~81 %低下していたが、蛋白尿の減少は 38.8 %にとどまっていた。この時間差のために、本コホートでは両者の間の相関が明確でなくなった可能性が考えられる。さらに Hoxha らは、多変量解析を行い PLA2R1 抗体価の基礎値が高いことが治療反応性不良(完全寛解に至らない)を予測する危険因子であることを見出した。これは従来の報告結果を支持するものである。しかし、PLA2R1 抗体の存在の有無や抗体価は治療反応性には影響しないとの報告も存在する⁸⁾。PLA2R1 自己抗体と MN 患者の臨床経過との関係については更なる検討を要する。

2. 一次性と二次性の鑑別

MN 診療において、一次性と二次性の鑑別は臨床的に大変重要である。二次性であれば、原疾患を治療する必要がある。二次性 MN の原因としては、感染症(HBV、梅毒)、薬剤(ブシラミン)、SLE、悪性腫瘍などがあげられる¹³⁾。特に、わが国では高齢化が進んでいることから、悪性腫瘍の診断はますます重要性を増している。さらに、最近では IgG4 関連疾患に伴う MN が報告されており^{14,15)}、二次性 MN の原因の一つとして鑑別する必要がある。

一次性 MN の糸球体足細胞傷害には抗 PLA2R1 に対する IgG4 抗体が関与していると考えられている。よって、病理で MN と診断した際には、蛍光抗体法による IgG サブクラス染色を施行すべきである。他のサブクラスと比較して IgG4 が明確に染色される場合には一次性 MN を第一に考える¹³⁾。抗 PLA2R1 抗体が陰性の場合でも、一次性 MN であれば IgG4 が陽性となる。つまり、IgG4 の優位性は PLA2R1 抗体に限ったことではない。このことは、MN の発症機序を考えるうえで興味深い。一方、C1q が陽性のときには通常 SLE を考える。ループス腎炎に伴う MN の場合は、IgG1 や IgG2 が比較的強く染色され、IgG4 は相対的に弱いことが特徴である。

悪性腫瘍と MN との関連は以前から知られている。MN 患者の約 10 %に MN 診断から 1 年以内に悪性腫瘍が見つかっており、特に 60 歳以上ではその確率は 20~25 %となっている¹⁶⁾。MN 患者には悪性腫瘍の発生頻度が高いと言える。その悪性腫瘍患者における MN 発生機序に関しては、古くは 1974 年に Couser からの報告がある。糸球体に沈着した免疫複合体に腫瘍抗原が存在し、血清には腫瘍抗原に反応する自己抗体が存在する悪性腫瘍関連 MN 患者を報告している¹⁷⁾。わが国の Ohtani らは、悪性腫瘍に伴う MN では一次性 MN と比較して IgG3 と IgG4 の染色強度に変わりはないが、IgG1 と IgG2 が相対的に強く染まると

報告している¹⁸⁾。

このように、一次性と二次性の鑑別には IgG サブクラスの染色が有用である。しかし、明らかに二次性の症例でも IgG4 が強陽性となる症例は存在する。さらに、MN 患者に対するスクリーニング検査で悪性腫瘍が見つかった場合、それが単なる合併か否かを判定することは大変難しい。そこで、血中の PLA2R1 抗体の存在を調べることは意義があると考えられる。血清がない場合には、次項で述べる通り、腎生検組織での PLA2R1 染色も有用である。PLA2R1 抗体が血清に存在するか PLA2R1 蛋白が糸球体沈着物に染色されれば一次 MN である可能性を第一に考えるべきであろう。

3. 腎生検組織での PLA2R1 染色

前述のごとく、病勢が治まった後では PLA2R1 自己抗体は陰性となっていると考えられる。よって、初期の血清が保存されていない場合には、後に PLA2R1 自己抗体の関与の有無を判断することは困難である。しかし、パラフィン包埋された腎生検組織が存在すれば、PLA2R1 抗体の有無が判定可能であることが示唆されている^{19,20)}。Hoxha らは 88 例の症例を前向きに検討し、腎生検組織を用いて PLA2R1 を免疫染色した。その結果、61 例で糸球体係蹄に顆粒状に染色され、うち 60 例で血清 PLA2R1 抗体が陽性であったと報告している¹⁹⁾。また Svobodova らは、治療により血中の PLA2R1 抗体が消失した後でも腎生検上では PLA2R1 が顆粒状に染色されることを示している²⁰⁾。現在、わが国では血清 PLA2R1 抗体の測定は研究室レベルに限られており、一般には普及していない。よって、PLA2R1 に対する免疫染色が血清 PLA2R1 抗体検出の代わりとなる。腎生検組織の免疫染色で PLA2R1 が染色されれば一次 MN、染色されなければ二次性の可能性が高いことが示唆されている²¹⁾。われわれも PLA2R1 の染色には、これらの論文と同様に Atlas 社製を使用しているが、その染色性はなかなか一定しない。抗体の種類(ロット)が変わると非特異的な染色が検出されたり、逆に全く染色されないことがある。免疫染色の結果の解釈には注意が必要である。

MN と遺伝子多型

MN に関連する遺伝子多型解析研究も複数報告されている。2011 年、韓国の Kim らは、199 例の一次 MN 患者を対照と比較した結果、PLA2R1 に 8 個ある C タイプレクチンドメインのうち 1 番目に存在する SNP である rs35771982 が CC タイプである者は、そうでない者に比較

して 2.6 倍 MN を発症しやすいという結果を報告した²²⁾。その後、欧州のグループは全ゲノム関連解析(GWAS)を行い、HLA-DQA1 と PLA2R1 に一次 MN に関連する SNP が存在することを報告している²³⁾。HLA-DQA1 と PLA2R1 に一次 MN に関連する SNP があり、疾患感受性の高いホモ接合型を 2 つの部位に同時に有する者は、全く持たない者に比較して 78.5 倍 MN を発症しやすいとされた。中国からの報告でも、PLA2R1 と HLA-DQA1 に一次 MN と関連する SNP が報告されている²⁴⁾。さらに、こうした遺伝子多型が血清 PLA2R1 抗体陽性と関連することも示された。こうした結果は、MN の発症に PLA2R1 と自己抗体を産生しやすい HLA が重要な役割を有することを示唆している。

その他の責任抗原

一次 MN における責任抗原を初めて報告したのは、実はわが国の Wakui らである。1999 年、Wakui らは特発性 MN 患者の 70%、二次性 MN 患者の 14% に α -enolase (ENO) に対する自己抗体が見られることを報告した²⁵⁾。抗 ENO 抗体は MN 以外の疾患でも検出されることから、MN の病因としての意義には課題が残っていた。

2002 年、フランスの Debiec, Ronco らが neutral endopeptidase (NEP) に対する抗体が原因となる小児 MN 症例を報告した²⁶⁾。NEP は 90~110 kDa の亜鉛依存性 metalloproteinase であり、腎臓では近位尿細管、糸球体上皮細胞、血管平滑筋細胞に発現している。Debiec らの報告は、遺伝的に NEP 蛋白を欠損している母親が妊娠した際に自児の NEP 抗原に感作され、次児を妊娠したときに母親由来の抗 NEP 抗体が胎児の糸球体足細胞の NEP 蛋白に結合し足細胞傷害を惹起し、次児は出生時にネフローゼ症候群を呈したものである²⁶⁾。4 週齢で施行された腎生検では病理学的に MN であることが確認されている。特殊かつ稀少な症例ではあるが、長期にわたる Heymann 腎炎研究により蓄積された知見がヒトの MN で実証されたことには大きな意義があったと言える。

さらに 2011 年、Debiec らは陽性荷電を持つウシアルブミン(BSA)に対する抗体が MN を起こすことを報告した²⁷⁾。BSA を用いて実験的に腎炎を惹起できるが、この発見も実験腎炎とヒトの腎炎をつなげるものとして興味深い。しかし、これも小児症例に限定的な現象であり普遍的な MN の原因抗原とは言えない。

2010 年に細胞内蛋白質である aldose reductase (AR) や

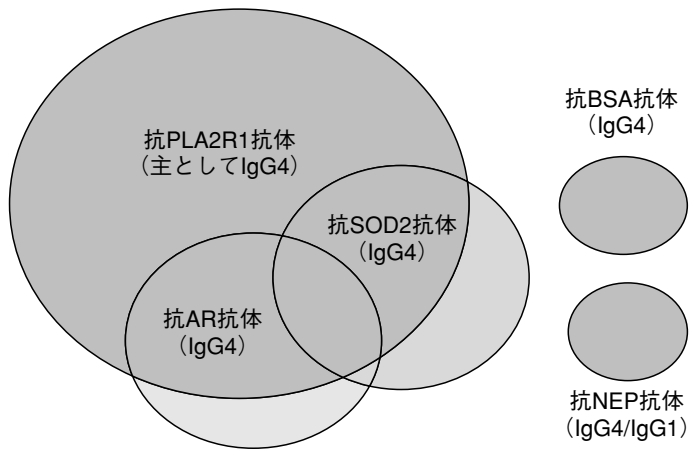


図2 一次性MNにおける各種抗体の関連
(文献30を引用, 改変)

manganese superoxide dismutase (SOD2)がMNの責任抗原候補として同定された²⁸⁾。MN患者の一部にAR抗体が、半数以上にSOD2抗体が存在していた。また、上皮下の免疫沈着物にARおよびSOD2に対するIgG4自己抗体と補体C5~9が局在していることが証明された。

最近になり、AR、SOD2、ENOに対する自己抗体はPLA2R1抗体と共存し、そのレベルはPLA2R1抗体レベルと相関すると報告されている²⁹⁾。細胞内蛋白質に対する抗

体は膜蛋白質であるPLA2R1に対する自己抗体産生に続く二次的なものである可能性がある。しかし、AR、SOD2、ENOに対する抗体もMN発症に関与していることも否定できない³⁰⁾(図2)。

MNの発症機序

MNの発症機序は明らかでないが、ひとつの仮説を示す¹³⁾(図3)。HLA-DQA1とPLA2R1に自己抗体の標的となりやすい構造を取らせる遺伝子多型が存在する。そうした遺伝子多型を有する者が環境変化(ウイルス感染など)による刺激を受け、PLA2R1の構造に変化が起こり、隠れていた標的エピトープが表出される。さらに何らかの刺激により足細胞でのPLA2R1発現が亢進し、局在も細胞内から基底膜側に移動する。一方、樹状細胞はPLA2R1分子の標的抗原を認識して、IgG1およびIgG4抗体を産生する。産生されたIgG1/IgG4抗体は糸球体基底膜を通過し、上皮下で足細胞に発現するPLA2R1と反応する(*in situ*仮説)。IgGサブクラスに関しては、一次性MNの発症初期にはIgG1が主体であるが次第にIgG4が強くなるとの報告がある³¹⁾。よって、初期の足細胞傷害はIgG1で説明可能かもしれない。IgG4は補体反応において通常の古典経路や代替

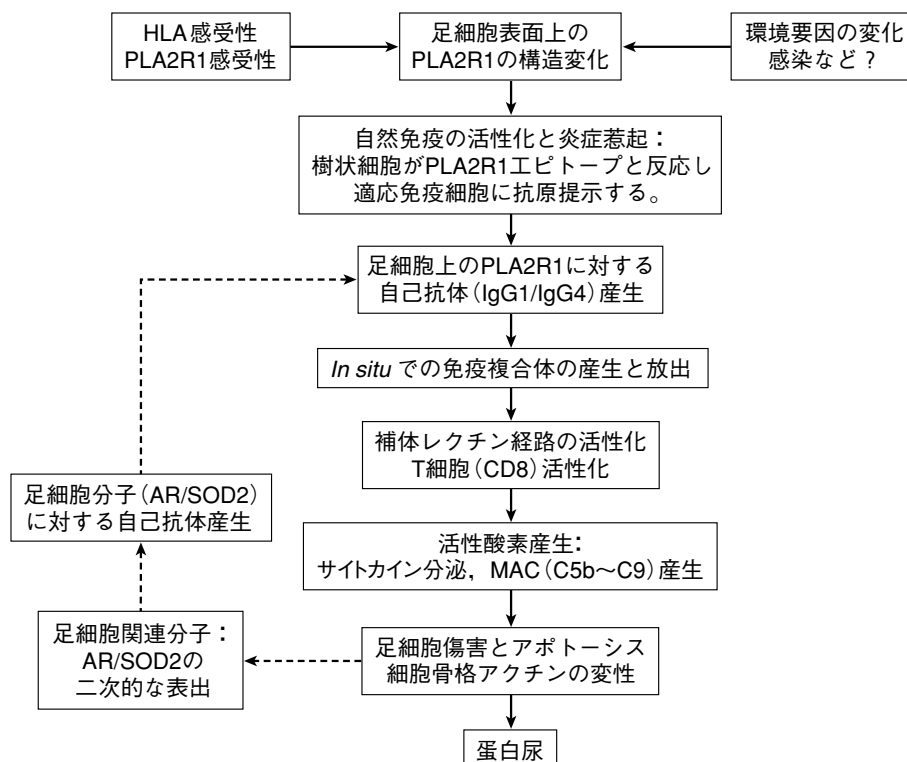


図3 自己抗体によるMNの発症機序(文献15を引用, 改変)

経路は活性化しないが、マンノース結合レクチン経路は活性化することができる。よって、IgG4が補体を活性化し、免疫複合体が形成される可能性はある。そして、活性酸素やC5b～C9の産生により、足細胞の障害が惹起され、蛋白尿を生じる。傷害された足細胞は新たな標的分子を細胞表面上に表出あるいは血中に放出する。その標的分子を樹状細胞が免疫担当細胞に抗原提示し、自己抗体を産生する。こうした抗原には、前述のAR, SOD2, ENOなどが含まれる。別の仮説として、補体活性化能の高い特別なIgG4が産生される可能性もある。さらに、PLA2R1抗体がPLA2R1を活性化し、補体非依存性に足細胞を傷害するという可能性も想定される。こうした機序に関しては、現在精力的に研究が進められている。

おわりに

これまでの報告から、PLA2R1に対する自己抗体が一次性MNの発症や病勢と強く関連することは明らかであるが、抗PLA2R1抗体自体がMNを惹起するという直接的な証拠はない。補体活性化能の弱いIgG4が補体を活性化する機序も明確になっていない。また、一次性MN患者では、PLA2R1抗体のみならずENO, AR, SOD2に対する自己抗体を同時に有する者も少なくない。さらに、わが国の一次性MNではほぼ全例にIgG4抗体が染色されるが、血清PLA2R1自己抗体の陽性率は約50%にすぎない。PLA2R1自己抗体が真の病因ではなく、MNによる足細胞の活性化と傷害に伴う二次的な変化である可能性も依然除外できない。現在多くの研究者がこの分野に参入している。今後、MNと自己抗体との関連がさらに解明され、最終的には自己抗体に特異的な治療の開発につながる研究成果を期待したい。

謝辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)の支援を受けた。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文献

1. Beck LH Jr, Bonegio RGB, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009 ; 361(1) : 11-21.
2. Yokota Y. ノックアウトマウスを用いたホスホリパーゼA2受容体の機能解析[Functional analysis of phospholipase A2 receptor by gene knockout studies]. *Yakugaku Zasshi* 2001 ; 121(1) : 23-33.
3. Hofstra JM, Wetzels JF. Phospholipase A2 receptor antibodies in membranous nephropathy : unresolved issues. *J Am Soc Nephrol* 2014.
4. Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011 ; 22(6) : 1137-1143.
5. Ardalan M, Ghafari A, Hamzavi F, Nasri H, Baradaran B, Majidi J, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in idiopathic membranous nephropathy : A report from Iranian population. *J Nephropathol* 2013 ; 2(4) : 241-248.
6. Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011 ; 26(8) : 2526-2532.
7. Hu SL, Wang D, Gou WJ, Lei QF, Ma TA, Cheng JZ. Diagnostic value of phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy : a systematic review and meta-analysis. *J Nephrol* 2014 ; 27(2) : 111-116.
8. Oh YJ, Yang SH, Kim DK, Kang SW, Kim YS. Autoantibodies against phospholipase A2 receptor in Korean patients with membranous nephropathy. *PLoS One* 2013 ; 8(4) : e62151.
9. Shin DH, Lee MJ, Oh HJ, Koo HM, Doh FM, Kim HR, et al. Stepwise treatment using corticosteroids alone and in combination with cyclosporine in Korean patients with idiopathic membranous nephropathy. *Yonsei Med J* 2013 ; 54(4) : 973-982.
10. Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-phospholipase A receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011 ; 6(6) : 1286-1291.
11. Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy : recent travels and new roads ahead. *Kidney Int* 2010 ; 77(9) : 765-770.
12. Hoxha E, Thiele I, Zahner G, Panzer U, Harendza S, Stahl RA. Phospholipase A2 receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2014.
13. Ponticelli C, Glassock RJ. Glomerular diseases : membranous nephropathy—A modern view. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013.
14. Wada Y, Saeki T, Yoshita K, Ayalon R, Kamimura K, Nakano M, et al. Development of IgG4-related disease in a patient diagnosed with idiopathic membranous nephropathy. *Clin Kidney J* 2013 ; 6(5) : 486-490.
15. Alexander MP, Larsen CP, Gibson IW, Nasr SH, Sethi S, Fidler ME, et al. Membranous glomerulonephritis is a manifestation of IgG4-related disease. *Kidney Int* 2013 ; 83(3) : 455-462.
16. Lefaucheur C, Stengel B, Nochy D, Martel P, Hill GS, Jacquot C, et al. Membranous nephropathy and cancer : Epidemiologic evidence and determinants of high-risk cancer association. *Kidney Int* 2006 ; 70(8) : 1510-1517.

17. Couser WG, Wagonfeld JB, Spargo BH, Lewis EJ. Glomerular deposition of tumor antigen in membranous nephropathy associated with colonic carcinoma. *Am J Med* 1974 ; 57(6) : 962-970.
18. Ohtani H, Wakui H, Komatsuda A, Okuyama S, Masai R, Maki N, et al. Distribution of glomerular IgG subclass deposits in malignancy-associated membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2004 ; 19(3) : 574-579.
19. Hoxha E, Kneissler U, Stege G, Zahner G, Thiele I, Panzer U, et al. Enhanced expression of the M-type phospholipase A2 receptor in glomeruli correlates with serum receptor antibodies in primary membranous nephropathy. *Kidney Int* 2012 ; 82(7) : 797-804.
20. Svobodova B, Honsova E, Ronco P, Tesar V, Debiec H. Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2013 ; 28(7) : 1839-1844.
21. Larsen CP, Messias NC, Silva FG, Messias E, Walker PD. Determination of primary versus secondary membranous glomerulopathy utilizing phospholipase A2 receptor staining in renal biopsies. *Mod Pathol* 2013 ; 26(5) : 709-715.
22. Kim S, Chin HJ, Na KY, Oh J, Chung W, Noh JW, et al. Single nucleotide polymorphisms in the phospholipase A2 receptor gene are associated with genetic susceptibility to idiopathic membranous nephropathy. *Nephron Clin Pract* 2011 ; 117(3) : c253-258.
23. Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A, Bockenhauer D, Kottgen A, Dragomirescu L, et al. Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011 ; 364(7) : 616-626.
24. Lv J, Hou W, Zhou X, Liu G, Zhou F, Zhao N, et al. Interaction between PLA2R1 and HLA-DQA1 variants associates with anti-PLA2R antibodies and membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2013 ; 24(8) : 1323-1329.
25. Wakui H, Imai H, Komatsuda A, Miura AB. Circulating antibodies against alpha-enolase in patients with primary membranous nephropathy (MN). *Clin Exp Immunol* 1999 ; 118(3) : 445-450.
26. Debiec H, Guignon V, Mougenot B, Decobert F, Haymann JP, Bensman A, et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N Engl J Med* 2002 ; 346(26) : 2053-2060.
27. Debiec H, Lefeu F, Kemper MJ, Niaudet P, Deschenes G, Remuzzi G, et al. Early-childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin. *N Engl J Med* 2011 ; 364(22) : 2101-2110.
28. Prunotto M, Carnevali ML, Candiano G, Murtas C, Bruschi M, Corradini E, et al. Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21(3) : 507-519.
29. Murtas C, Bruschi M, Candiano G, Moroni G, Magistroni R, Magnano A, et al. Coexistence of different circulating antipodocyte antibodies in membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012 ; 9 : 1394-1400.
30. Ardalan M. Triggers, bullets and targets, puzzle of membranous nephropathy. *Nephrourol Mon* 2012 ; 4(4) : 599-602.
31. Huang CC, Lehman A, Albawardi A, Satoskar A, Brodsky S, Nadasdy G, et al. IgG subclass staining in renal biopsies with membranous glomerulonephritis indicates subclass switch during disease progression. *Mod Pathol* 2013 ; 26(6) : 799-805.