

阻断 MASP-2 蛋白依赖的补体凝集素途径活化的抗体开发

吴易潘

(上海麦济生物技术有限公司 201203)

摘要: 补体是人体先天免疫系统之一, 在对抗感染方面起着重要作用, 补体系统的上游激活途径包括三条: 经典途径 (CP), 凝集素途径 (LP), 旁路/替代途径 (AP)。补体的功能失调或者过度激活会导致一些罕见的疾病, 如阵发性夜间血红蛋白尿 (PNH), 非典型溶血性尿毒症综合征 (aHUS), 造血干细胞移植相关血栓性微血管病 (HSCT-TMA) 等等, IgA 肾病 (IgAN) 中也涉及到补体凝集素途径和旁路途径的激活。甘露聚糖结合凝集素丝氨酸蛋白酶 2 (MASP-2) 是补体凝集素途径的关键催化酶, 阻断 MASP-2 的功能可以成功阻断补体凝集素途径, 从而减轻由于补体过度激活导致的对人体的损伤。本研究开发出了针对 MASP-2 的抗体, 抗体可阻断 MASP-2 的酶活性, 可作为潜在的 MASP-2 依赖性补体活化相关疾病的治疗药物。

关键词: 补体, 凝集素途径, MASP-2, 抗体

Development of antibodies that block MASP-2 protein-dependent activation of the complement lectin pathway

Yipan Wu

Shanghai MabGeek Biotechnology Co., Ltd.

Room 304, No. 1011 Halei Road, Pudong New Area, Shanghai

Abstract: Complement is one of the human innate immune systems and plays an important role in fighting infection. There are three upstream activation pathways of the complement system, include Classic pathway, Lectin pathway and Alternative pathway. Complement dysfunction or overactivation can lead to rare diseases such as paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS), hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy (HSCT-TMA) Etc., activation of the complement lectin pathway and the alternative pathway is also involved in IgA nephropathy (IgAN). Mannan-binding lectin serine protease 2 (MASP-2) is a key catalytic enzyme in the complement lectin pathway. Blocking the function of MASP-2 can successfully block the complement lectin pathway, thereby reducing the damage to the human body caused by excessive complement activation. In this study, an antibody against MASP-2 was developed. The antibody can block the enzymatic activity of MASP-2 and can be used as a potential therapeutic drug for MASP-2-dependent complement activation-related diseases.

Key words: Complement, Lectin pathway, MASP-2, Antibody

引言

补体系统是有多重蛋白组成的激活和调节系统, 用于标记损坏和非我的细胞和组织^[1]。补体自我激活并引发炎症。有效且适当调节的补体活性对于先天和适应性免疫及内稳态的维持极为关键^[2]。补体系统可以通过三条途径激活: 经典途径 (CP), 凝集素途径 (LP), 旁路途径 (AP)。

凝集素途径通过模式识别分子 (PRM) 与非自我细胞表面的病原体相关模式分子 (PAMPs) 或损伤相关模式分子 (DAMPs) 的糖分子结合而激活^[3]。在没有 C1q 的情况下, 检测到 C4d (C4 活化的切割片段) 是 LP 活化的免疫组织学证据。凝集素途径的模式识别分子包括多种凝集素, 如甘露聚糖结合凝集素 (MBL)、纤维胶原素 (M-ficolin/Ficolin-1、L-ficolin/Ficolin-2、H-ficolin/Ficolin-3), 胶原凝集素 (CL-L1/CL-10、CLK1/CL-11)^[3]。模式识别分子在循环系统中与二聚化的前体酶形成复合物, 当其与 N-氨基半乳糖或甘露糖结合时, 将前体酶激活成丝氨酸蛋白酶。凝集素途径的蛋白酶叫 MBL 相关丝氨酸蛋白酶 (MASP), 包括 MASP-1, MASP-2 和 MASP-3^[4]。MASP-2 可以切割并激活 C4 和 C2 形成 C3 转化酶 (C4bC2a)^[4]。MASP-1 可以激活 MASP-2, 并且可以切割 C2 但不能切割 C4, 因此在缺少 MASP-2 的情况下 MASP-1 不能形成 C3 转化酶。MASP-3 不能切割 C4 或者 C2, 最近数据显示 MASP-3 是 D 因子前体的激活酶, D 因子是旁路途径激活的关键组分^[5]。

补体系统的三条上游途径指向共同的末端途径 (TP), C5 转化酶切割 C5 形成过敏毒素 C5a 和 C5b 片段, C5b 结合 C6-C9 形成 C5b9, 即膜攻击复合物 (MAC)。膜攻击复合物是一种孔状结构, 可以插入细胞膜并促进无核细胞和革兰氏阴性细菌的裂解, 还使有核细胞进入损伤途径^[2]。

补体系统的有效调控对于定向的炎症和保护自体细胞免于受伤非常关键。C3 和 C5 转化酶的自发衰减是限制补体激活的生理特性^[6], 除此之外还有一些位于细胞膜表面的和流动相的补体通路调节因子限制补体活性和级联反应的进行。CD59, CD35(CR1) 和 CD55 是重要的膜表面补体调节因子, 经典途径和凝集素途径还受到 C4 结合蛋白 (C4BP)、I 因子 (FI) 和 C1 抑制因子 C1INH (C1r, C1s,

MASP-1 和 MASP-2 的丝氨酸蛋白酶抑制剂) 的调节^[3]。

越来越多的证据表明补体的活性失调与一些疾病的发生有相关性, 如阵发性夜间血红蛋白尿 (PNH), 非典型溶血性尿毒症综合征 (aHUS), IgA 肾病 (IgAN) 等。因此补体通路的蛋白被纳入药物开发靶点, 补体抑制剂进入了药物临床试验。多项回顾性临床研究发现的组织学, 血液学, 基因组学证据显示补体凝集素途径的失调或活化与 IgA 肾病 (IgAN) 的发病与临床症状严重程度相关^[7]。本研究开发针对 MASP-2 的抗体, 期待其可作为补体凝集素途径失调相关的疾病的药物开发的候选分子。

材料与方法

1. 抗原表达与纯化

MASP-2 CCP1-CCP2-Serine Protease 片段 (MASP-2 CCS), 以及带有 Ser633Ala 突变的 MASP-2 CCP1-CCP2-Serine Protease 片段 (MASP-2A CCS) 基因构建入 Uco 载体, 加入 IgG Fc 段为纯化标签。稳转入 HEK293 细胞, 加压培养至得到稳转细胞池。将细胞池扩大培养, 上清用 Protein A 填料纯化, 得到纯化的抗原蛋白。

2. 抗体分子的制备与筛选

MASP-2 CCS 或 MASP-2A CCS 蛋白分别与弗氏佐剂 (Sigma, F5881) 或 ADJUVANT P 佐剂 (GERBU, 3111.0025) 混合乳化, 50 μ g/只小鼠, 免疫 Balb/c 小鼠, 每隔 3 周加强免疫一次。第三次免疫后一周取血测效价, 再过一周后用 10 μ g/只小鼠的 MASP-2 CCS 或 MASP-2A CCS 蛋白尾静脉注射入小鼠体内。三天后取小鼠脾脏跟骨髓瘤细胞 SP2/0 2:1 混合, 用电融合液 (BTX, 47-0001) 洗三次, 最后悬浮于电融合液中, 用电融合仪 (BTX, ECM 2001) 进行电击, 将细胞加入含有 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基 (Gibco, 11330-032) 中, 100 μ l/ 10^4 个细胞/孔铺于 96 孔板中, 第二天加入等体积 2X HAT (Gibco, 21060-017) 加压培养。7 天后用含有 1X HAT (Gibco, 11067-030) 的培养基全量换液, 再过三天后准备检测上清。

以 500 ng/ml 浓度, 100 μ l/孔将 MASP-2 CCS 或 MASP-2A CCS 包被于 96 孔板 (Costar, 9018) 中, 4 $^{\circ}$ C 过夜或室温 4 小时。弃包被液, 加入 200 μ l/孔的封闭液 (1% BSA, PBST), 4 $^{\circ}$ C 过夜或室温 4 小时。

弃封闭液，加入100 ul/孔96孔板中的细胞培养上清或者梯度稀释的纯化抗体，室温孵育1小时。用PBST洗3次，在吸水纸上拍干酶标板。100 ul/孔加入1:10000稀释的羊抗鼠IgG Fc-HRP (Sigma, A2554)，室温孵育1小时，PBST洗3次，加入100 ul/孔TMB，显色10分钟后加入50 ul/孔1 N H₂SO₄终止反应。立即用酶标仪 (Molecular device spectra max plus384) 在450 nm波长处测量各孔的OD值并分析数据。

能结合抗原的克隆在经过两轮亚克隆后被冻存，并转入无血清培养基放入细胞摇床中扩大培养至体积200 ml，培养上清用Protein G填料纯化出抗体，用于后续的活性分析。

3. 抗原抗体结合亲和力测定

抗原抗体结合亲和力用GE Biacore T200仪器测定，在Protein G芯片上捕获抗体150 RU，MASP-2 CCS蛋白从200 nM浓度开始1:2稀释八个浓度，从低浓度到高浓度依次结合芯片上捕获的抗体分子，洗脱用HBS EP缓冲液，芯片再生用GlycinepH1.5缓冲液，所得到的传感图数据用软件分析计算出亲和力结果。

4. 抗体分子的体外活性筛选

C4分子催化降解抑制实验：

甘露聚糖 (Sigma, M7504) 溶解于包被液 (Sigma, C3041-50CAP) 中，终浓度10 ug/ml，100 ul/孔4℃过夜包被于96孔板中。用TBS洗板两次，加入200 ul封闭液 (TBS，含1 mg/mL人血清白蛋白，CALBIOCHEM, 12668-10GMCN)，于37℃封闭2小时。用结合缓冲液 (TBS，1 M NaCl, 10 mM CaCl₂, 0.05% Triton X-100, 0.1% HSA, pH7.4) 洗板3次，将普通血清 (MILLIPORE, S1-100ml) 以4%比例稀释于结合缓冲液中，加入到96孔板中于4℃过夜孵育。用结合缓冲液洗板2次，再用洗涤缓冲液 (TBS, 5 mM CaCl₂; 0.05% Tween 20, pH=7.4) 洗板3次。50 ul/孔加入杂交瘤细胞培养上清或者梯度稀释的纯化的抗体，室温下反应30分钟。将人补体C4蛋白 (Calbiochem, 204886) 稀释于GVB++缓冲液中 (GVB, Novateinbio, NIBB-300X, 含2 mM CaCl₂, 1 mM Mgcl₂)，终浓度4 ug/ml，50 ul/孔加入到96孔板中，37℃反应1小时。将96孔板放入冰水中孵育15分钟，终止反应。用PBST洗板3次，加入1:4000稀释的生物素化抗C4b抗体 (AssayPro, 11254-05021)，反应1小时。洗板3次，加入1:5000稀释的HRP标记的链霉素亲和素 (Sigma, S2438)，37℃反应1小时。洗板3次，加入100 ul/孔TMB，50 ul/孔1 N H₂SO₄终止反应，在酶标仪 (Molecular device spectra max plus384) 上以450 nm波长读取数值。

C3分子催化降解抑制实验：

甘露聚糖 (Sigma, M7504) 溶解于包被液 (Sigma, C3041-50CAP) 中，终浓度10 ug/ml，100 ul/孔4℃过夜包被于96孔板中。用TBS洗板两次，加入200 ul封闭液 (TBS，含1 mg/mL人血清白蛋白，CALBIOCHEM, 12668-10GMCN)，于37℃封闭2小时。用TBS洗板3次，用GVB++缓冲液 (GVB, 含2 mM Cacl₂, 1 mM Mgcl₂) 150 ul/孔润洗96孔板。将C1q耗尽的人血清 (Chemicon, 234401) 以4%的比例稀释于GVB++缓冲液，将抗体从200 nM浓度开始1:2稀释，与4% C1q耗尽的人血清混合，4℃反应1小时。将混合的样品加入置于冰上预冷的96孔板中，在37℃中反应1.5小时。将板置于冰水中终止反应10分钟，用PBST洗板3次，加入1:8000稀释的抗C3c抗体 (Dako, A0062) 37℃反应1小时。洗板3次，加入1:5000稀释的抗兔IgG-HRP (Invitrogen, A24537) 37℃反应1小时。洗板3次，加入100 ul/孔TMB，50 ul/孔1 N H₂SO₄终止反应，在酶标仪 (Molecular device spectra max plus384) 上以450 nm波长读取数值。

5. 抗体分子的动物体内药效学研究

抗体的体内药效在溶血性尿毒综合征 (HUS) 模型上评估，MASP-2人源化的C57BL/6小鼠20只/组分为两组，提前6小时在实验组体内注射7.5 mg/kg的抗体，对照组注射PBS。6小时后所有小鼠体内同时注射300 μg/kg LPS + 225 ng/kg Stx2。48小时后每隔6小时观察记录小鼠的存活情况，直至120小时，实验结束。

结果

1. 抗原表达与纯化

MASP-2 含有6个片段：CUB1, EGF, CUB2, CCP1, CCP2, Serine Protease (SP)^[8]。包含 CCP1-CCP2-Serine Protease 基因片段 (MASP-2 CCS, Tyr293-Phe686) 的蛋白理论分子量为70 KDa (图1)，由于 Serine Protease (SP) 片段具有酶活性，会自我剪切，所以纯化出来的蛋白会被切割成两段，在还原条件下在 SDS-PAGE 中呈现两条带。具有 Ser633Ala 氨基酸突变的 CCP1-CCP2-Serine Protease 片段 (MASP-2A CCS, Tyr293-Phe686)，Serine Protease 片段失去酶活性，不能自我剪切为两段，所以在还原条件下在 SDS-PAGE 中呈现一条带。这样既保持了蛋白的构象，又增加了蛋白的稳定性。

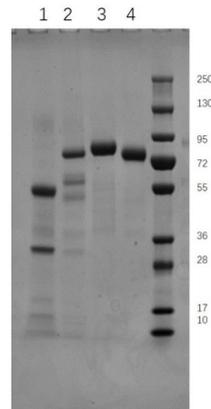


图1. MASP-2 CCS与MASP-2A CCS的SDS-PAGE结果，1，MASP-2 CCS还原条件；2，MASP-2 CCS非还原条件；3，MASP-2A CCS还原条件；4，MASP-2A CCS非还原条件。

2. 抗体的产生与筛选

小鼠经过三次免疫及一次冲击免疫以后，血清中的抗体滴度达到要求，脾脏细胞便可以与SP2/0细胞进行杂交瘤融合。通过ELISA方法进行抗体抗原结合筛选，得到符合要求的克隆。为了检测抗体跟抗原的结合强度，通过ELISA方法来初步鉴定。通过不同浓度梯度的抗体与固定量的抗原结合来得到抗原抗体结合曲线，结果如图2所示，mab126-21与mab124-19的EC₅₀均在0.24 nM，说明抗体与抗原结合具有很好的亲和力。

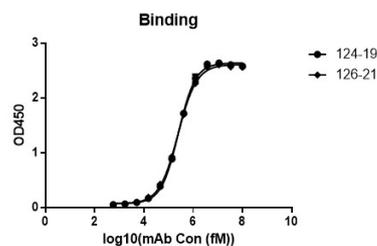


图2. 抗原抗体结合曲线

3. 抗原抗体结合亲和力测定结果

通过表面等离子体共振 (SPR) 方法测定的抗原抗体结合亲和力结果如表1所示，mab126-21与MASP-2 CCS的亲和力为1.478X10⁻¹⁰ M，mab124-19与MASP-2 CCS的亲和力为3.504X10⁻¹⁰ M，可见 mab126-21 与抗原结合的亲和力高于 mab124-19 与抗原结合亲和力。

表1. 抗原抗体结合亲和力测定结果

	Ka(1/Ms)	Kd(1/s)	KD(M)
126-21	4.281E ⁵	6.329E ⁻⁵	1.478E ⁻¹⁰
124-19	1.661E ⁶	5.819E ⁻⁴	3.504E ⁻¹⁰

4. 抗体体外活性鉴定结果

补体凝集素途径 (LP) 的模式识别分子 (PRM) MBL 或 Ficolin 与 2 个 MASP-1 及 2 个 MASP-2 组合成复合物, 当 MBL 或 Ficolin 结合到 N-氨基半乳糖或甘露糖上时, MBL 将激活 MASP-2 为丝氨酸蛋白酶, MASP-2 催化 C4 和 C2 形成 C3 转化酶 C4bC2a。C4bC2a 催化 C3 分解成 C3b, 进而形成 C5 转化酶 C4bC2aC3b。所以 MASP-2 是这一通路的关键催化酶, 阻断 MASP-2 的活性将阻断补体凝集素途径。当抗体结合到 MASP-2 上以后, 检测 C4 的裂解产物 C4b 与 C3b 的多少可以反映 MASP-2 的酶催化活性的强弱, 进而反映抗体的酶催化阻断活性 (图 3)。

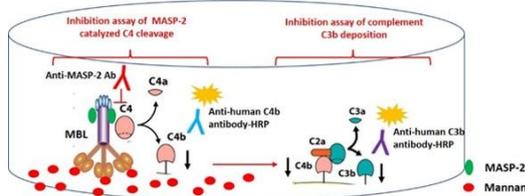


图 3. 抗体功能检测的体外实验设计原理

抗体抑制 MASP-2 催化 C4, C2 形成 C4bC2a 的酶活抑制曲线如图 4 所示, mab126-21 与 mab124-19 的 IC50 分别为 0.067 nM, 0.426 nM, 说明 mab126-21 的酶活抑制活性强于 mab124-19, 这与 mab126-21 与抗原结合的亲和力强于 mab124-19 相一致。而且当抗体浓度高于 8nM 时, mab126-21 可以完全抑制 MASP-2 的酶活性。

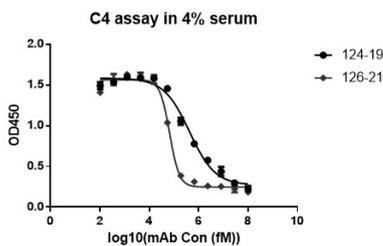


图 4. 抗体抑制 MASP-2 催化 C4 裂解的实验结果

抗体抑制 C4bC2aC3b 的形成的抑制曲线如图 5 所示, mab126-21 与 mab124-19 的 IC50 分别为 0.387 nM, 3.199 nM, 说明 mab126-21 的酶活抑制活性强于 mab124-19, 这与 mab126-21 与抗原结合的亲和力强于 mab124-19 相一致。

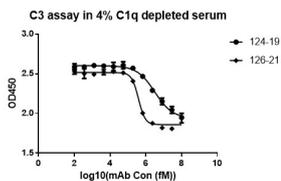


图 5. 抗体抑制 C3 的催化裂解的结果

5. 抗体的体内药效学研究结果

抗体的体内药效通过溶血性尿毒综合征 (HUS) 模型来验证, 根据 HUS 的发病诱因不同其临床分型分为典型 HUS 即腹泻相关性 HUS (D+HUS) 和非典型 HUS (aHUS/D-HUS)。D+HUS 主要由产志贺类毒素的埃希大肠杆菌 O157:H7 引起^[9]; aHUS 则指非腹泻相关 HSU(D-HUS)^[10], 是多因素疾病, 由基因 (补体调控蛋白基因突变等) 易感性与感染或细胞毒素等环境因素共同激活补体系统, 引起 aHUS 发病, 其预后差, 进展至终末期肾病比例高, 其中, 以肺炎链球菌感染最常见。

药效结果如图 6 所示, 可见 mab126-21 可以显著延长小鼠的中位存活时间, 从 84 小时延长到 96 小时, 说明 mab126-21 抑制了小鼠体内的 MASP-2 酶活性, 阻断了补体凝集素途径, 减轻了补体过度激活对机体的损伤。

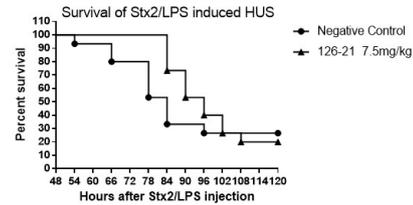


图 6. 抗体在 HUS 模型中的药效结果

讨论

补体在人体的天然免疫和维持内稳态方面发挥着重要作用, 补体成分复杂, 其具体的生理功能还未完全研究清楚, 新的发现一直有报道, 例如最近数据显示 MASP-3 是 D 因子前体的激活酶, D 因子是旁路途径激活的关键组分^[5], 说明凝集素途径与旁路途径互相之间有交联。MASP-1, MASP-2 在体内受到 C1INH 的负调控^[3]。在多项回顾性临床研究中, 许多证据表明 IgA 肾病患者体内存在补体过度激活或者失调现象。Berger 首次报道了 IgA 肾病患者肾活检样本检测出了 IgA 和 C3 的沉积^[11], 25% 病人体内检测出了凝集素途径和末端途径的成分, 如 MBL、L-ficolin、MASP-2, MASP-1/3 及 C5b9^[12,13]。肾小球沉积凝集素途径的蛋白与 IgA 肾病的严重程度相关, Roos 等人证明肾小球沉积 MBL、L-ficolin、MASP2、MASP1/3 及 C4d 与病人出现蛋白尿、血肌酐升高和进展至肾衰竭有关^[13]。与健康对照组相比, IgA 肾病中的血浆 MASP-3 水平较低, MASP-3 降低与 IgA 肾病严重程度的临床和组织学标志物相关^[14]。从合并的正常人血清中纯化的表面结合 IgA 可以在体外结合 MBL-MASP 复合物, 导致 C3 和 C4 活化和沉积^[15]。

以上证据导致开发针对 MASP-2 蛋白的治疗性抑制剂, 并已被用于基于具体情况的 IgAN 患者治疗。Narsoplimab(OMS721)是一种针对 MASP-2 的人源化单克隆抗体, 可抑制 LP 活性。在最初观察到 4 名 IgAN 患者停止使用糖皮质激素后, Narsoplimab 导致蛋白尿减少后, 测试了连续 12 周每周 1 次静脉注射 Narsoplimab 对减少蛋白尿的疗效。12 名 IgAN 患者以 1:1 的比例随机分配至 Narsoplimab 或载体对照组^[16]。尽管接受了最大耐受血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEi) 或血管紧张素受体阻滞剂 (ARB) 治疗, 并且 eGFR 至少为 30ml/min/1.73m², 但所有患者的持续性蛋白尿至少 1g/24h。三名患者因违反协议而被排除在外。报告的不良事件相似, 两个队列中大多数患者的 eGFR 保持稳定。到第 18 周 (治疗加上 6 周的随访), 两组之间的蛋白尿减少没有差异 (18.0% 和 18.4%)^[16]。所有患者随后每周接受 Narsoplimab 输注, 持续 12 周, 随后中位患者群改善了 -61.4% 的蛋白尿, 但并非所有患者均出现下降 (蛋白尿的范围变化为 +7.3 至 -77.3%)^[16]。基于这些结果, 一项随机、双盲、安慰剂对照的 Narsoplimab 试验正在持续性蛋白尿 IgAN 患者中进行 (ARTEMIS-IGAN, ClinicalTrials.gov 标识符 NCT03608033)。

本研究的结果表明, mab126-21 及 mab124-19 具有足够的特异性及亲和力 (分别为 14 nM, 35 nM), 并能抑制 MASP-2 对 C4 的催化切割, 以及抑制下游 C3 的催化切割, 说明抗体能够阻断补体凝集素途径。体内药效研究表明, mab126-21 能够在 HUS 模型中延长小鼠的中位生存时间 12 小时, 提供了一定保护力, 具有开发为补体蛋白抑制剂药物的潜力。

结论

本研究开发了针对补体凝集素途径蛋白 MASP-2 的抗体, 抗体具有很好的特异性及亲和力, 能有效阻断其酶活性, 进而阻断凝集素途径, 在动物体内展现出良好的药效活性。多方面证据表明 IgA 肾病, 非典型溶血性尿毒症综合征 (aHUS) 等疾病存在补体活性失调。虽然这些疾病的致病机理还研究不足, 补体各个途径在疾病中的作用还未阐明, 针对凝集素途径关键蛋白酶 MASP-2 的阻断抗体将有助于这些机理的研究, 还可以进一步用于以上疾病的治疗药物的开发。

感谢

感谢张成海博士对我的工作的信任与支持, 要是没有他给我的机会我将不会学习这么多知识, 能够得到这一小小成果首先要感谢他。还要感谢各位同事对我的工作的支持, 没有大家的团队协作要完成这一工作也将不可能, 谢谢大家!

参考文献

- [1]RICKLIN D, HAJISHENGALLIS G, YANG K, et al. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(9):785–97.
- [2]MERLE N S, NOE R, HALBWACHS-MECARELLI L, et al. Complement System Part II: Role in Immunity[J]. *Front Immunol*, 2015, 6:257.
- [3]GARRED P, GENSTER N, PILELY K, et al. A journey through the lectin pathway of complement-MBL and beyond[J]. *Immunological Reviews*, 2016, 274(1):74–97.
- [4]KJAER T R, THIEL S, ANDERSEN G R. Toward a structure-based comprehension of the lectin pathway of complement[J]. *Mol Immunol*, 2013, 56(4):413–22.
- [5]DOBO J, PAL G, CERVENAK L, et al. The emerging roles of mannose-binding lectin-associated serine proteases (MASPs) in the lectin pathway of complement and beyond[J]. *Immunol Rev*, 2016, 274(1):98–111.
- [6]LAW S K, DODDS A W. The internal thioester and the covalent binding properties of the complement proteins C3 and C4[J]. *Protein Sci*, 1997, 6(2):263–74.
- [7]MEDJERAL-THOMAS N R, COOK H T, PICKERING M C. Complement activation in IgA nephropathy[J]. *Semin Immunopathol*, 2021, 43(5):679–690.
- [8]BELTRAME M H, BOLDT A B, CATARINO S J, et al. MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases[J]. *Mol Immunol*, 2015, 67(1):85–100.
- [9]MOHAWK K L, O'BRIEN A D. Mouse models of Escherichia coli O157:H7 infection and shiga toxin injection[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 2011:258185.
- [10]AFSHAR-KHARGHAN V. COMPLEMENTing the diagnosis of aHUS[J]. *Blood*, 2014, 124(11):1699–700.
- [11]BERGER J. IgA glomerular deposits in renal disease[J]. *Transplant Proc*, 1969, 1(4):939–44.
- [12]ENDO M, OHI H, OHSAWA I, et al. Glomerular deposition of mannose-binding lectin (MBL) indicates a novel mechanism of complement activation in IgA nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, 13(8):1984–90.
- [13]ROOS A, RASTALDI M P, CALVARESI N, et al. Glomerular Activation of the Lectin Pathway of Complement in IgA Nephropathy Is Associated with More Severe Renal Disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17:1724 – 1734.
- [14]MEDJERAL-THOMAS N R, TROLDORBORG A, CONSTANTINOU N, et al. Progressive IgA Nephropathy Is Associated With Low Circulating Mannan-Binding Lectin-Associated Serine Protease-3 (MASP-3) and Increased Glomerular Factor H-Related Protein-5 (FHR5) Deposition[J]. *Kidney Int Rep*, 2018, 3(2):426–438.
- [15]ROOS A, BOUWMAN L H, GIJLSWIJK-JANSSEN D L J V, et al. Human IgA Activates the Complement System Via the Mannan-Binding Lectin Pathway[J]. *The Journal of Immunology*, 2001, 167:2861–2868.
- [16]LAFAYETTE R A, ROVIN B H, REICH H N, et al. Safety, Tolerability and Efficacy of Narsoplimab, a Novel MASP-2 Inhibitor for the Treatment of IgA Nephropathy[J]. *Kidney Int Rep*, 2020, 5(11):2032–2041.

作者简介：吴易潘
性别：男
出生年月：1985年9月
籍贯：四川省阆中市
学历：硕士研究生
研究方向：抗体药物分子发现
单位：上海市麦济生物技术有限公司
单位邮编：201203