

KL-6 联合 SP-A 和 SP-D 在间质性肺疾病血清学检测中的临床应用研究

陈杏园¹ 李尚阳² 刘洋¹ 李琳琳¹ 赵丽媛² 袁育林^{2*}

1. 中山大学附属第一医院广西医院检验科 广西南宁 530000

2. 广西壮族自治区人民医院检验科 广西南宁 530000

摘要: 目的: 通过比较间质性肺病患者、肺癌患者、社区获得性肺炎患者及健康人的血清 KL-6、SP-A、SP-D 水平, 探究其单独或联合应用在间质性肺病患者中的应用价值。方法: 检测各组的血清 KL-6、SP-A、SP-D 水平并进行统计学分析。结果: ILD 组患者的 KL-6、SP-D 水平明显高于肺癌组、肺炎组和健康对照组。KL-6 水平 3 期高于 2 期, 2 期高于 1 期。病情进展的 ILD 患者在治疗前治疗后的 KL-6 水平呈增高趋势。KL-6 在 ILD 的诊断中, 灵敏度为 88.1%, 特异度为 81.5%, KL-6 和 SP-D 联合诊断时, 灵敏度为 78.9%, 特异度 90.1%。结论: ILD 患者中血清 KL-6、SP-D 水平显著升高, 对 ILD 的诊断有重要意义, SP-D 与 KL-6 联合应用可以提高 ILD 的诊断价值。

关键词: 间质性肺病; 结缔组织病; 涎液化糖链抗原 -6; 肺泡表面蛋白 D; 肺泡表面蛋白 A

背景

间质性肺病 (Interstitial lung disease, ILD) 是以肺泡炎症不可逆地向肺实质广泛纤维化进展为特征的一组疾病群, 及早诊断和治疗可以有效控制疾病的发展进程, 因此寻找可以早期诊断 ILD 并评价其病情活动度的生物标志一直是科学家研究的热点。国内外研究者已经充分肯定了涎液化糖链抗原 -6(Krebs von den lungen, KL-6) 对 ILD 的预测性诊断价值^[1], 也有研究也提示了 KL-6 动态监测疾病预后的重要意义^[2]。尽管 KL-6、肺表面活性物质相关蛋白 A(Surfactant proteins A, SP-A)、肺表面活性物质相关蛋白 D(Surfactant proteins D, SP-D) 作为反映肺泡上皮细胞受损、功能障碍的生物标志物, 已经在不同 ILD 疾病中进行了相对广泛的研究, 填补了 ILD 诊疗生物标志物的空白^[3]。本研究针对广西地区 ILD 患者中 KL-6、SP-A、SP-D 的水平做具体分析各个指标的诊断价值, 针对 KL-6 与 HRCT 的严重性进行具体分析, 分析 KL-6 在 ILD 患者严重程度上的诊断价值。利用血清 KL-6 联合 SP-A、SP-D 在正常健康人和不同分型 ILD 患者诊断中产生的数据, 通过大数据分析技术, 构建 ILD 血清学诊断标准化数据库, 包括中国正常健康人群参考范围、不同分型 ILD 患者血清 KL-6 和 SP-A、SP-D 的诊断界值、血清

KL-6 和 SP-A、SP-D 浓度变化与 ILD 患者治疗及预后的相关性, 以期 KL-6 联合 SP-A、SP-D 在我国 ILD 患者中的临床应用提供充分依据, 建立适用于 ILD 的、最佳灵敏度和特异性的血清生物标志物的组合, 为 ILD 患者的早期诊断、治疗监测、预后判断提供更有价值的信息。

1 材料与方法

1.1 病历资料

本试验为前瞻性研究, 共纳入符合标准的成人 ILD 病例 182 例, 对照病例 146 例, 包括: 社区获得性肺炎 46 例、成人肺癌 54 例、健康成人 46 例。

入选标准:

符合以下条件的 18 岁及以上患者, 可以作为本试验对象。

a) ILD 组: 以《2019 间质性肺病诊治指南》为基准确诊的 ILD 患者。

b) 社区获得性肺炎组: 以《中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南》为基准。

c) 肺癌组: 以《肺癌诊断治疗指南》为基准。

d) 健康对照组: 没有呼吸系统疾病, 且不伴随呼吸道症状; 成人呼吸功能检验值 (SpO₂ 在 95% 以上, VC 在 80% 以

上)、胸部 HRCT 检查均未见异常。

1.2 检测试剂

主要试剂为 SP-A、SP-D 检测试剂 (上海抚生实业有限公司) 和 KL-6 检测试剂 (日本积水科技有限公司)。

1.3 标本采集

采集患者空腹静脉血 3ml, 分离出血清置于冻存管 -80℃ 冰箱中冻存储备, 避免反复冻融, 样本收集完成后进行 KL-6、SP-D、SP-A 的检测。同时实验组随访 6 个月, 监测肺功能的变化。

0.4 KL-6、SP-A、SP-D 血清学检测

KL-6 检测: 全自动生化分析 AU5800 (美国 BECKMAN);

SP-A、SP-D 检测: ADC ELISA600 全自动酶联免疫工作站 (山东艾德康)。

1.5 数据统计

采用 SPSS 24.0 进行统计学分析并结合 excel 进行绘图。计数资料例数用 n 表示, 正态检验用 Kolmogorov-Smirnov (K-S), $P > 0.05$ 表示数据服从正态分布, 用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, $P \leq 0.05$ 为偏态分布, 用中位数 (P50)[四分位数间距 (P25,P75)] 表示。多组同时满足正态分布, 则两组间比较用 t 检验, 偏态分布两组间比较用非参数 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较用非参数 Kruskal-Wallis H 检验; 通过受试者工作曲线 (receiver operating characteristic, ROC) 及曲线下面积判断各项血清生物学标志物的灵敏度、特异度并进行效能评价。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 KL-6、SP-A、SP-D 在 ILD 中的诊断价值

ILD 组 KL-6 和 SP-D 的水平明显高于肺癌组、肺炎组和健康对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。ILD 组与肺炎组的 SP-A 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 ILD 患者 SP-A 水平高于肺癌组及健康对照组, 且差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

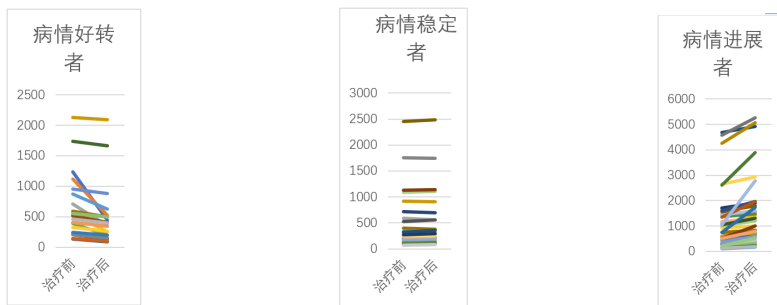
表 1 ILD 组、肺癌组、肺炎组和健康对照组血清 KL-6、SP-A、SP-D 水平的比较

	KL-6(U/ml)	SP-D(ng/L)	SP-A(ng/L)
ILD (n=182)	542.3 (267.3, 1060.1)	15.25(12.48,20.04)	31.75(24.66,43.23)
肺癌 (n=54)	277.65 (236.23, 571.325)	12.28(7.54,16.57)	30.01(21.97,41.51)
肺炎 (n=46)	126.9 (94.15, 182.15)	11.74(9.02,14.91)	29.36(22.07,40.32)
健康对照 (n=46)	47.25 (43.1, 170.425)	10.75(9.32,14.61)	24.82(19.82,33.27)
P0	<0.01	<0.01	<0.01
P1	0.002	0.04	<0.01
P2	<0.01	<0.01	0.312
P3	<0.01	<0.01	<0.01

注: P0 为三个指标在 ILD 组、肺癌组、肺炎组和健康对照组四组间的比较, 结果为偏态分布, P1 为三个指标在 ILD 组和肺癌组的比较, P2 为三个指标在 ILD 组与肺炎组的比较, P3 为三个指标在 ILD 组与健康对照组的比较。

2.2 ILD 患者在治疗前治疗后的 KL-6 水平变化

依据 ILD 患者的胸部 CT 表现及肺功能指标变化, 将 ILD 患者分为病情进展组 (49,45.79%)、病情稳定组 (35, 32.71%)、病情好转组 (23, 21.50%), 病情进展组 KL-6 呈上升趋势 (图 1a), 病情稳定组 KL-6 变化不大 (图 1b), 病情好转组 KL-6 呈下降趋势 (图 1c)。



a ILD 患者病情进展组治疗前治疗后的变化 b ILD 患者病情稳定组治疗前治疗后的变化 c ILD 患者病情好转组治疗前治疗后的变化

图 1 患者病情进展

2.3 ILD 组各期的 KL-6、SP-A、SP-D 水平比较分析

依据 ILD 患者胸部 HRCT 的表现分为 3 个期, 其中 1

期(小叶间隔增厚且有磨玻璃影及弧线影)共 60 例 (32.97%)、

2 期(1 期基础上加结节影及肺内片状实变影)共 60 例

(32.97%)、3期(2期基础上加弥漫性纤维化、蜂窝状影及牵拉支气管扩张)共62例(34.06%)。结果显示KL-6水平3期高于2期高于1期,且差异具有统计学意义($P < 0.01$);而SP-D、SP-A水平在三个期的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 ILD组各期的KL-6、SP-A、SP-D水平比较

ILD组	KL-6(U/ml)	SP-D(ng/L)	SP-A(ng/L)
1期	212.2 (153.4, 268.5)	15.35(12.41,20.03)	31.02(25.47,41.31)
2期	515.65(411.43,617.65)	13.99(11.82,18.46)	32.01(24.09,43.01)

表3 ILD患者中血清KL-6、SP-D和SP-A的ROC曲线下面积及灵敏度和特异度分析

	灵敏度 (%)	特异性 (%)	约登指数	曲线下面积	标准误	P值	95% 置信区间	
							下限	上限
KL-6(U/ml)	88.1	81.5	0.546	0.824	0.023	<0.01	0.779	0.869
SP-D(ng/L)	81.7	53.1	0.352	0.673	0.031	<0.01	0.621	0.71
SP-A(ng/L)	70.1	34.5	0.103	0.525	0.033	0.352	0.413	0.517
KL-6 联合 SP-D	78.9	90.1	0.81	0.911	0.016	<0.01	0.876	0.931

3 讨论

ILD亦称为弥漫性实质性肺疾病,病因广泛,包括200多个以肺实质广泛纤维化和(或)炎症异常为特征的病种,其中特发性间质性肺炎(Idiopathic interstitial pneumonia, IIP)是尤为难治且预后不良的一大类疾病群。ILD临床主要表现为进行性加重的呼吸困难、限制性通气功能障碍伴弥散功能下降、低氧血症以及影像学上的双肺弥漫^[1]。ILD病理表现从肺泡炎逐步发展为不可逆性肺纤维化再发展为功能衰竭。如果医生在疾病早期及时诊断治疗,就能通过免疫抑制剂延缓肺部纤维化的进程,有效改善疾病预后。目前临床确诊ILD^[2]主要依赖于影像学的高分辨率CT、病理组织活检和肺功能检查,其中高分辨率CT是最重要的诊断方法,病理组织活检产生有创损伤,肺功能检查敏感性高但特异性较低,由于肺功能检查需要特定的检测仪器,并且重复性差,我们还需要探索更加简单、高效、安全、重复性好的检测方法。目前,已有很多研究表明,血清中的KL-6能够灵敏的反映肺间质和肺泡腔的损伤^[4]。KL-6是1985年日本学者Kohno在研究肺腺癌时发现的一种大分子糖蛋白,分子量约为200kD,这种可溶性循环抗原^[5]在正常II型肺泡上皮细胞表面和终末细支气管上皮细胞少量表达,在退变的II型肺泡上皮细胞表达增强^[2]。

3期	1261.5 (1054.8; 1756.9)	16.41(13.58,21.89)	29.21(26.34,42.17)
P4	<0.01	<0.01	<0.01
P5	<0.01	0.501	0.828
P6	<0.01	0.097	0.609

注: P4为三个指标在3个期三组间的比较,均为偏态分布; P5为三个指标在1期和2期间比较, P6为三个指标在2期和3期间比较。

2.4 KL-6、SP-D、SP-A在ILD中诊断界值的分析

ILD组血清KL-6、SP-D水平显著升高,二者联合检测特异性更高。

现有研究表明,与健康人和其他呼吸系统疾病相比, KL-6在间质性肺疾病ILD患者血清中的含量显著升高^[6]。Kobayashi J等研究者通过受试者工作曲线ROC分析,进一步确认了血清中KL-6在ILD中高敏感性和特异性^[6]。2011年,日本呼吸系统学会弥漫性肺疾患的诊断·治疗指南编制委员会已经将KL-6纳入ILD的诊断标准中。相比KL-6在ILD诊断中的研究进展, KL-6应用于疾病病程发展的动态监测相对滞后。随后Yanaba等将影像学CT变化于血清学KL-6水平相结合,同样提示了KL-6可以监测ILD的病情变化^[7]。Bandoh等^[8]随访了5例非特异性间质性肺炎(nonspecific interstitial pneumonia, NSIP)和3例弥漫性肺泡损伤(diffuse alveolar damage, DAD)患者,结果显示5例肺部磨玻璃影病变为主的患者病情好转, KL-6水平明显下降, 3例肺部实变影为主的患者病情恶化, KL-6水平明显上升。这项研究说明了肺部病变类型与治疗效果有关,同样提示临床KL-6监测病情变化的灵敏性,本研究再次验证了此结论。KL-6作为ILD诊断及治疗监测的血清学检测指标,具有标本易获得、价格低廉、可重复等优点,具有重大的临床应用价值。日本已经将其列为ILD的诊断标准,但是目前我国还缺乏国人血清KL-6的正常参考区间。

SP-A和SP-D主要是由II型肺泡上皮细胞、呼吸细支

气管上皮细胞 (clara 细胞) 合成与分泌, 在胸膜、腹膜、肠系膜等间皮组织、泌尿生殖系统等多种肺外组织中微弱表达的一种亲水性的脂蛋白, 属于C型选择素超家族集合素(胶原-凝集素) 亚群。SP-A、SP-D 在 ILD 中的应用价值: 渗出性肺水肿时, 肺泡液中增高的 SP-A、SP-D 除了发挥其固有免疫的作用外, 还参与细胞外肺表面活性剂的重组和更新, 在肺组织结构恢复中起到重要作用。随着炎症的发展, 肺泡-毛细血管屏障损害渐加重, 肺组织内富含的多种生物学标志物大量释放入血, 血清 SP-A、SP-D 迅速升高。因此, 检测肺泡灌洗液和/或血清中 SP-A、SP-D 水平变化, 在 ILD 的早期诊断、病情进展及预后评估中具有重要价值。

本研究中, ILD 组患者的 KL-6、SP-D 水平明显高于肺癌组、肺炎组和健康对照组, ILD 组和肺炎组 SP-A 水平无明显差异, 与相关研究结论一致^[9], 但 ILD 组与肺癌组和健康对照组相比 SP-A 水平升高。尽管血清 SP-A 在 ILD 中的鉴别诊断作用尚未得到充分证明, 但 SP-A 的变化可以反映抗纤维化药物治疗的效果, 血清 SP-A 具有作为抗纤维化药物治疗效果的生物标志物的潜在价值^[10]。病情稳定的 ILD 患者在治疗前治疗后的 KL-6 水平变化不大, 病情好转的 ILD 患者在治疗前治疗后的 KL-6 水平有整体呈下降趋势, 病情进展的 ILD 患者在治疗前治疗后的 KL-6 水平呈增高趋势, 且 ILD 患者依据胸部 HRCT 表现分为 1、2、3 期后发现, KL-6 肺部 HRCT 表现越严重, KL-6 水平越高, 即 KL-6 水平与 HRCT 纤维化评分之间存在联系, 表明疾病严重程度, 这充分证明了 KL-6 在 ILD 患者治疗监测和预测疾病进展中的作用。但 SP-A 和 SP-D 水平无显著差异。KL-6 在 ILD 的诊断作用中, 灵敏度和特异度较好, 但 SP-D 和 SP-A 特异性不佳, KL-6 和 SP-D 联合诊断时, 特异度增加, 但灵敏度下降, KL-6 和 SP-D 联合应用对于鉴别诊断有一定作用, KL-6 与 SP-A 和 SP-D 的联合诊断应用有待进一步研究。

综上: 血清 KL-6 作为 ILD 患者的诊断血清学标志物, 具有可反复检测、简单易行、经济实惠、结果客观等极强的优越性, KL-6 联合 SP-D 对 ILD 的诊断效能更好。

注: 陈杏园与李尚阳对本研究贡献一样, 列为并列第一作者。

参考文献:

[1] 来娜琳, 魏华. KL-6 在 CTD-ILD 患者中的研究进展

[J]. 中国现代医生, 2024, 62(22): 125-128.

[2] Chiu YH, Chu CC, Lu CC, Liu FC, Tang SE, Chu SJ, Kuo SY, Chen HC. KL-6 as a Biomarker of Interstitial Lung Disease Development in Patients with Sjögren Syndrome: A Retrospective Case-Control Study. *J Inflamm Res*. 2022 Apr 8;15:2255-2262.

[3] 江涛. KL-6 在结缔组织病相关肺间质病变疾病中作用研究 [J]. 中外医疗, 2021, 40(24): 18-21.

[4] STRONGMAN H, KAUSAR I, MAHER T M. Incidence, Prevalence, and Survival of Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis in the UK [J]. *Adv Ther*, 2018, 35(5): 724-736.

[5] KOHNO N, AKIYAMA M, KYOIZUMI S, et al. Detection of soluble tumor-associated antigens in sera and effusions using novel monoclonal antibodies, KL-3 and KL-6, against lung adenocarcinoma [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 1988, 18(3): 203-216.

[6] LEE J S, LEE E Y, HA Y J, et al. Serum KL-6 levels reflect the severity of interstitial lung disease associated with connective tissue disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 58.

[7] VIJ R, STREK M E. Diagnosis and treatment of connective tissue disease-associated interstitial lung disease [J]. *Chest*, 2013, 143(3): 814-824.

[8] BANDO S, FUJITA J, OHTSUKI Y, et al. Sequential changes of KL-6 in sera of patients with interstitial pneumonia associated with polymyositis/dermatomyositis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2000, 59(4): 257-262.

[9] 李沃松. 血清 KL-6、SP-A、SP-D 在结缔组织病间质性肺病中应用价值的探讨 [D]. 中国医科大学, 2023. 000769.

[10] Yoshikawa T, Otsuka M, Chiba H, Ikeda K, Mori Y, Umeda Y, Nishikiori H, Kuronuma K, Takahashi H. Surfactant protein A as a biomarker of outcomes of anti-fibrotic drug therapy in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Pulm Med*. 2020 Jan 31;20(1):27.

作者简介:

陈杏园, 硕士, 主管技师, 中山大学附属第一医院广西医院检验科。

基金项目:

课题: KL-6 联合 SP-A 和 SP-D 在间质性肺疾病血清学检测中的临床应用 (Z-A20220077)。