

## 论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.09.016

网络首发 [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200204.1420.002.html\(2020-02-04\)](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200204.1420.002.html(2020-02-04))

## 血清 KL-6、SP-A 在类风湿关节炎合并肺间质病变患者中的表达及临床意义\*

杨金良,郑学军<sup>△</sup>,任占芬,罗 寰

(河北北方学院附属第一医院风湿免疫科,河北张家口 075000)

**[摘要]** **目的** 探讨类风湿关节炎(RA)合并肺间质病变(ILD)患者血清中Ⅱ型肺泡细胞表面抗原涎液化糖链抗原-6(KL-6)、肺表面活性蛋白 A(SP-A)的表达及其临床意义。**方法** 选择该院 2016 年 3 月至 2018 年 6 月收治的 RA 患者 38 例,根据患者病情将其分为单纯 RA 组( $n=28$ )和 RA 合并 ILD 组(RA-ILD 组, $n=10$ );另选 30 例健康体检者血清标本作为对照组,采用 ELISA 方法检测 3 组对象的 KL-6、SP-A 水平,并分析 RA-ILD 组患者血清中 KL-6、SP-A 水平与相关免疫指标、肺功能的相关性。**结果** 血清 KL-6、SP-A 水平在 RA-ILD 组 $[(1\ 142.00\pm 839.28)$ 、 $(83.90\pm 28.33)$  U/mL]明显高于单纯 RA 组 $[(418.50\pm 457.10)$ 、 $(24.40\pm 15.81)$  U/mL]和对照组 $[(403.30\pm 150.87)$ 、 $(22.00\pm 5.73)$  U/mL],差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),而单纯 RA 组与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。相关分析结果显示,RA-ILD 患者中 KL-6、SP-A 的水平与 28 个关节疾病活动度评分(DAS28)呈正相关( $r=1.080,0.829,P<0.05$ ),与红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF)无明显相关性( $P>0.05$ );RA-ILD 患者血清中 KL-6 和 SP-A 与用力肺活量(FVC)、肺活量(VC)、一氧化碳弥散量(DLCO)均呈明显负相关( $r=-0.454$  和  $-0.371$ 、 $-0.428$  和  $-0.492$ 、 $-0.160$  和  $-0.436,P<0.05$ )。**结论** RA-ILD 患者血清中 SP-A、KL-6 水平明显增高,SP-A、KL-6 水平可作为早期发现 ILD 的血清学指标,联合肺功能检测可更早发现 ILD。

**[关键词]** 关节炎,类风湿;涎液化糖链抗原-6;肺表面活性蛋白 A;肺功能;肺间质病变**[中图分类号]** R563.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)09-1442-04

## Expression and clinical significance of serum KL-6 and SP-A in patients with rheumatoid arthritis complicating interstitial lung disease\*

YANG Jinliang,ZHENG Xuejun<sup>△</sup>,REN Zhanfen,LUO Huan

(Department of Rheumatism and Immunology,First Affiliated Hospital of Hebei North University,Zhangjiakou,Hebei 075000,China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression and clinical significance of serum type II alveolar cell surface antigen (KL-6) and surfactant protein-A (SP-A) in the patients with rheumatoid arthritis(RA) complicating interstitial lung disease (ILD). **Methods** Thirty-eight patients with RA treated in this hospital from March 2016 to June 2018 were selected and divided into the simple RA group ( $n=28$ ) and RA complicating ILD group (RA-ILD group, $n=10$ ) according to the disease condition. The serum specimens of other 30 persons undergoing the healthy physical examination were selected as the normal control group. The KL-6 and SP-A levels in the three groups were detected by adopting ELISA. The correlation between the levels of KL-6 and SP-A with the related immune indexes and pulmonary function in the RA-ILD group was analyzed. **Results** Serum KL-6 and SP-A levels in the RA-ILD group were significantly higher than those in the simple RA group and control group  $[(1\ 142.00\pm 839.28)$ 、 $(83.90\pm 28.33)$  U/mL vs.  $(418.50\pm 457.10)$ 、 $(24.40\pm 15.81)$  U/mL,  $(403.30\pm 150.87)$ 、 $(22.00\pm 5.73)$  U/mL], and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ), but which showed no statistically significant difference between the simple RA group and control group ( $P>0.05$ ). The correlation analysis results showed that the KL-6 and SP-A levels in the RA-ILD group were positively correlated with DAS28 score ( $r=1.080,0.829,P<0.05$ ), and had no correlation with erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) and rheumatoid factor (RF). The KL-6 and SP-A levels in the

\* 基金项目:河北省张家口市科学技术研究与发展计划项目(1521100D);河北省卫生健康委员会医学科学课题计划项目(20190898)。

作者简介:杨金良(1985—),主治医师,硕士,主要从事风湿免疫性疾病的临床研究。△ 通信作者,E-mail:totoromika@163.com。

RA-ILD group were negatively correlated with the forced vital capacity (FVC), vital capacity (VC) and diffusion capacity for carbon monoxide of the lung (DLCO) ( $r = -0.454, -0.371; -0.428, -0.492; -0.160, -0.436, P < 0.05$ ). **Conclusion** The serum SP-A and KL-6 levels in the patients with RA-ILD are significantly increased. The SP-A and KL-6 levels may serve as the serological markers for early finding ILD, its combining with lung function tests can find ILD earlier.

**[Key words]** arthritis, rheumatoid; krebs von den lungen-6; surfactant protein A; pulmonary function; interstitial lung disease

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以多发对称性、侵袭性、小关节炎为主要表现的自身免疫性疾病。RA除了可侵犯关节外,同时可引起多脏器受累,其中肺间质病变(interstitial lung disease, ILD)为最常见肺部受累的表现,早期可无明显症状,随着肺部病变进展,可逐渐出现肺间质纤维化,进而导致患者肺功能异常、肺动脉高压、呼吸衰竭等,是RA患者的重要死因之一。涎液化糖链抗原-6(krebs von den lungen-6, KL-6)是由II型肺泡上皮细胞及细支气管上皮细胞分泌的一种高分子糖蛋白,最初作为肿瘤的一种血清生物学标记物被认知,近年来研究发现其可促进肺成纤维细胞的增殖、再生,抑制凋亡,与ILD有直接关系<sup>[1]</sup>。肺表面活性蛋白(surfactant protein, SP)-A是一种由II型肺泡上皮细胞和克拉拉细胞分泌的糖蛋白,是肺表面活性物质的重要组成蛋白,当肺泡受损时在血液中会明显增高,是肺损伤的重要血清生物标记物之一。本研究检测RA合并ILD(RA-ILD)患者血清KL-6、SP-A水平,探讨其在RA-ILD诊断、治疗、预防及疾病发展中的临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2016年3月至2018年6月在本院住院的RA患者38例,RA患者的诊断均符合1987年美国风湿病学会(ACR)的RA诊断标准及2009年ACR和欧洲抗风湿联盟(EULAR)提出的RA分类标准和评分系统。ILD诊断严格按照2011年由美国胸科学会(ATS)、欧洲呼吸学会(ERS)、日本呼吸学会(JRS)和拉丁美洲胸科学会(ALAT)共同制订的“特发性间质性肺纤维化循证诊治指南”诊断标准及病理分型,肺活检为ILD诊断的金标准,由于为创伤性检查,取材困难,不能积极开展,因此多以临床表现及肺部高分辨CT(HRCT)表现作为主要诊断依据<sup>[2]</sup>。患者无肺部肿瘤;未合并慢性肝、肾功能不全;未合并RA以外其他自身免疫性疾病;既往无慢性肺源性心脏病、肺气肿等呼吸系统疾病。38例患者中单纯RA患者28例(RA组),RA-ILD患者10例(RA-ILD组)。另选健康体检者30例作为对照组,其中男17例,女13例,平均年龄(48.40±8.93)岁。两组患者年龄、病程比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 肺功能检测

采用德国进口耶格肺功能测试仪,按照操作规范

检查,记录RA-ILD患者肺活量(VC)、用力肺活量(FVC)、第1秒用力呼气容积(FEV1)及一氧化碳弥散量(DLCO)。

表1 两组患者一般情况比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | n  | 男/女  | 年龄(岁)      | 病程(年)      |
|------------|----|------|------------|------------|
| RA-ILD组    | 10 | 6/22 | 59.83±8.51 | 10.74±4.10 |
| 单纯RA组      | 28 | 7/3  | 50.50±9.84 | 5.95±1.82  |
| $t/\chi^2$ |    | 0.01 | 2.35       | 1.91       |
| P          |    | 0.91 | 0.04       | 0.00       |

#### 1.2.2 KL-6、SP-A水平测定

3组对象均于清晨取外周静脉血标本3mL,取样后室温静置30min后3500r/min离心10min,分离血清于-70℃冰箱保存。测定前将血清标本置于室温复融,混匀,再次离心取上清液测定。采用ELISA法严格按照试剂说明书操作测定KL-6、SP-A水平(KL-6、SP-A试剂盒购自西唐生物制品有限公司)。

#### 1.2.3 红细胞沉降率(ESR)、C反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF)水平测定及28个关节疾病活动度评分(DAS28)

入院24h内抽取RA-ILD组患者空腹血液分别检测ESR、CRP及RF水平。用物理自然沉降法检测ESR水平。用电化学发光法检测血浆CRP水平。用免疫透射比浊法检测RF水平。DAS28 = 0.56√(压痛关节数) + 0.28×√(肿胀关节数) + 0.70×ln(ESR) + 0.014×患者健康状态评分, >5.1为疾病高度活动, >3.2~5.1为疾病中度活动, 2.6~3.2为疾病低度活动, <2.6为病情缓解。

### 1.3 统计学处理

数据采用SPSS17.0统计软件进行分析,计量资料符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析和成组t检验;计数资料以率表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验,单因素相关分析采用Pearson相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组对象血清KL-6、SP-A水平比较

RA-ILD组血清KL-6、SP-A水平明显高于单纯RA组及对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),而单纯RA组与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表2。

### 2.2 RA-ILD患者血清KL-6、SP-A水平与疾病活动

### 指标的相关性分析

应用 Spearman 相关分析 RA-ILD 患者中 KL-6、SP-A 的水平与疾病活动度之间的相关性,结果显示血清中 KL-6、SP-A 水平与 DAS28 呈正相关( $r = 1.080, 0.829, P < 0.05$ ),与 ESR、CRP、RF 无明显相关性( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 2 血清 KL-6、SP-A 在各组的表达( $\bar{x} \pm s, U/mL$ )

| 指标   | RA-ILD 组        | 单纯 RA 组                    | 对照组                        |
|------|-----------------|----------------------------|----------------------------|
| KL-6 | 1 142.00±839.28 | 418.50±457.10 <sup>a</sup> | 403.30±150.87 <sup>a</sup> |
| SP-A | 83.90±28.33     | 24.40±15.81 <sup>a</sup>   | 22.00±5.73 <sup>a</sup>    |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与 RA-ILD 组比较。

表 3 RA-ILD 患者血清 KL-6、SP-A 水平与疾病活动相关指标的相关性分析

| 指标    | KL-6  |       | SP-A   |       |
|-------|-------|-------|--------|-------|
|       | $r$   | $P$   | $r$    | $P$   |
| DAS28 | 1.080 | 0.007 | 0.829  | 0.018 |
| ESR   | 0.017 | 0.963 | -0.167 | 0.132 |
| CRP   | 0.368 | 0.413 | 0.146  | 0.359 |
| RF    | 0.017 | 0.549 | -0.211 | 0.421 |

### 2.3 RA-ILD 患者血清 KL-6、SP-A 水平与肺功能指标的相关性分析

应用 Spearman 相关分析 RA-ILD 患者中 KL-6、SP-A 水平与肺功能指标 FVC、VC、DLCO 均呈明显负相关( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 4 RA-ILD 患者血清 KL-6、SP-A 水平与肺功能指标的相关性分析

| 指标   | KL-6   |       | SP-A   |       |
|------|--------|-------|--------|-------|
|      | $r$    | $P$   | $r$    | $P$   |
| FVC  | -0.454 | 0.001 | -0.371 | 0.027 |
| VC   | -0.428 | 0.000 | -0.492 | 0.004 |
| DLCO | -0.160 | 0.000 | -0.436 | 0.021 |

### 2.4 RA-ILD 患者胸部高分辨率 CT 表现

10 例 RA-ILD 患者通过高分辨 CT 均提示为 ILD,其中双肺小片状或小结节影 3 例,磨玻璃样阴影 2 例,蜂窝状肺 2 例,网织影 2 例,多发囊性病变 1 例。

## 3 讨论

RA 是一种原因未明的、慢性、进展性的系统性炎症性疾病,其特点是外周小关节对称性、侵蚀性关节炎和化膜增生,但同时可导致系统性损害,其中肺是受累脏器之一,可表现为 ILD、气道疾病、类风湿结节和胸膜增厚等,在肺部病变中以 ILD 最为常见。RA 患者合并 ILD 患病率约为 10%,另有 33% 的患者可以通过 HRCT 监测到 ILD<sup>[3]</sup>。合并 ILD 患者病死率高,早期诊断对于治疗及预后具有重要意义。HRCT 影像学表现为诊断 ILD 的最重要依据,但不能早期发现肺泡-毛细血管屏障的破坏程度,通过检测 ILD 的生物标记物对 ILD 诊断、治疗与预后评价起到重要作

用<sup>[4]</sup>。目前 RA-ILD 发病机制不明确,涉及炎症细胞、细胞因子、环境因素、药物等,与未患 ILD 的患者相比,RA-ILD 患者的死亡风险增加 3 倍,大多 ILD 患者起病隐匿,发现时 ILD 已较重,应用检查手段尽早发现 RA-ILD 成为研究热点<sup>[5-6]</sup>。伴发 ILD 的因素包括老年、男性、吸烟、RF 明显升高、抗环瓜氨酸多肽(CCP)抗体滴度增高等<sup>[7-8]</sup>。

KL-6 是主要在肺组织中 II 型肺泡上皮细胞及细支气管上皮细胞表达的一个大的膜结合的糖蛋白,也可以表达在乳腺、胰腺等其他肺外腺上皮细胞。有研究表明与健康组对照,在肺结节病、支气管扩张、过敏性肺炎、特发性肺间质纤维化、普通肺炎等均有 KL-6 表达升高,但是不能区分病种<sup>[9-10]</sup>。BONELLA 等<sup>[11]</sup>发现结缔组织病并发 ILD(包括 RA、系统性红斑狼疮、皮肌炎/多发性肌炎、混合性结缔组织病、干燥综合征)发生率和结局及其不同,自身抗体与发病机制和组织损伤密切相关,除了自身抗体,血清或肺泡灌洗物中肺源性生物标记物 KL-6、SP-A、SP-D 趋化因子基序配体 18(CCL18)等有可能预测纤维化的发展、肺功能损伤及患者预后,同时遗传/表观遗传学标记物,如人类白细胞抗原单体型、单核苷酸多态性和微型 RNA 可能有助于确定不同亚型患者的需求,进而患者有不同的治疗策略。SP-A 是肺泡合成在细胞质内存贮的一种复合磷脂,主要功能是降低肺泡表面张力、维持肺泡结构稳定、防止过度扩张或萎缩,抗氧化损伤,调节肺顺应性,能有效保护肺组织、加快肺组织修复。当细菌、病毒等致病菌导致肺部感染或损伤时,位于肺泡气液界面的 SP-A、SP-D 水平逐渐增高,进而成为阻碍病原体的第一道防线,但大量炎症因子破坏肺泡上皮细胞时,可以导致 SP-A、SP-D 分泌减少,尤其在 ILD 发病中发挥着重要作用,使肺部炎性病变更进一步发展导致肺泡-毛细血管屏障损害,肺组织内富含的生物学标记物大量入血<sup>[12-15]</sup>。张继云等<sup>[16]</sup>研究发现,结缔组织病合并 ILD 患者血清中 KL-6、SP-A、SP-D、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)均高于单纯结缔组织病组,考虑由于自身免疫功能紊乱导致肺间质受损,导致炎症因子及肺泡表面活性物质进入血液。刘倩等<sup>[17]</sup>也分析了结缔组织病合并 ILD 患者的 KL-6 水平明显高于不合并 ILD 组,敏感性、特异性分别为 71.7%、87.1%,发现在 HRCT 上不同病变范围间 KL-6 水平存在明显差异,ILD 活动组与 ILD 非活动组 KL-6 水平比较差异有统计学意义,ESR、CRP、FVC、DLCO 与 KL-6 水平相关性分析未发现明显相关性,提示 KL-6 水平测定对于结缔组织病 ILD 的诊断、肺病变范围及活动度评估有一定意义。方璇等<sup>[18]</sup>研究发现,系统性硬化症合并 ILD(SSc-ILD)患者 KL-6 及 SP-D 水平明显增高,且与肺功能指标中 FVC、DLCO、VC 呈负相关,与 ESR、CRP 均未发现相关性,由此考虑 KL-6、SP-D 水平可能为 SSc-ILD 病情严重程度的血清学指标。本研究检测单纯 RA、



RA-ILD 及对照组血清 KL-6、SP-A 水平,结果显示 RA-ILD 组较单纯 RA 组明显增高,但单纯 RA 组与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示血清 KL-6、SP-A 水平测定可作为 RA-ILD 的血清学指标,有可能反映肺部损伤程度,与上述研究结果相符。此外,本研究发现 KL-6、SP-A 水平与 DAS28 有相关性,未发现与 ESR、CRP 及 RF 有相关性( $P>0.05$ ),提示疾病活动度越高,RA 合并 ILD 可能性越大,同时发现 KL-6、SP-A 水平与肺功能指标中 FVC、VC、DLCO 有明显相关性( $P<0.05$ )。

综上所述,RA-ILD 患者血清 KL-6 及 SP-A 水平较高,且与疾病活动明显相关,有望成为 ILD 特异性更高的生物学标记物,同时对 ILD 的诊断、评估及预后有重要意义,且与 X 线片、HRCT 及肺功能检测相比,具有无创、简单易行、可定量等优点,但需除外其他疾病导致的肺泡损伤及血液恶性肿瘤<sup>[19]</sup>。当发现患者 KL-6、SP-A 水平增高,对 RA 患者行 HRCT 联合肺功能检查对早期发现 ILD 有重要意义。

## 参考文献

[1] ISHIKAWA N, HATTORI N, YOKOYAMA A, et al. Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases[J]. *Respir Invest*, 2012, 50(1):3-13.

[2] RAGHU G, COLLARD H R, EGAN J J, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(6):788-824.

[3] FRANCISCO P, TRACY J D, ELAINE A F, et al. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease and idiopathic pulmonary fibrosis: shared mechanistic and phenotypic traits suggest overlapping disease mechanisms[J]. *Rev Invest Clin*, 2015, 67(5):280-286.

[4] 陈杰,张念,崔天益. 特发性肺纤维化的生物学标记物检测应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(1):68-70.

[5] ASSAYAG D, LEE J S, KING T E. Rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease: a review[J]. *Medicina*, 2014, 74(2):158-165.

[6] ASSAYAG D, ELICKER B M, URBANIA T H, et al. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: radiologic identification of usual interstitial pneumonia pattern[J]. *Radiology*, 2014, 270(2):583-588.

[7] 杨金良,郑学军,罗寰,等. 类风湿性关节炎合并

肺间质病变相关因素分析[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2016, 19(9):1297-1300.

- [8] 庞亚飞. 类风湿性关节炎合并肺间质病变发病因素研究[J]. *山西医药杂志*, 2016, 45(17):2038-2039.
- [9] HANG H, PENG X, NAKAJIMA J. Advances in the study of biomarkers of idiopathic pulmonary fibrosis in Japan[J]. *Biosci Trends*, 2013, 7(4):172-177.
- [10] KOHNO N, YOKOYAMA A, KONDO K. KL-6 as a serum marker for amiodarone-induced pulmonary toxicity[J]. *Intern Med*, 2000, 39(12):1004-1005.
- [11] BONELLA F, COSTABEL U. Biomarkers in connective tissue disease-associated interstitial lung disease[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2014, 35(2):181-200.
- [12] 裴祥,孙铁英. 特发性肺纤维化生物标记物在临床应用中的研究进展[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2015, 38(7):527-532.
- [13] VIJ R, NOTH I. Peripheral blood biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Transl Res*, 2012, 159(4):218-227.
- [14] CHAN A L, RAFII R, LOUIE S, et al. Therapeutic update in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013, 44(1):65-74.
- [15] SONE K, AKIYOSHI H, HAYASHI A, et al. Elevation of serum surfactant protein-A with exacerbation in canine eosinophilic pneumonia[J]. *J Vet Med Sci*, 2016, 78(1):143-146.
- [16] 张继云,穆清爽,赵旌. 结缔组织病相关肺间质病变患者血清和支气管肺泡灌洗液生物学标记物的表达及其临床意义[J]. *广西医学*, 2017, 39(12):1773-1776.
- [17] 刘倩,赵振军,张晓. 血清 KL-6 检测在结缔组织病肺间质病变中的意义[J]. *中华风湿病学杂志*, 2016, 20(6):396-399.
- [18] 方璇,陶金辉,徐晓玲,等. 系统性硬化症合并肺间质病变患者血清中 KL-6 及 SP-D 水平与肺功能参数的关系[J]. *安徽医学*, 2016, 37(8):940-944.
- [19] OSAKA A, YANAGIHARA K, YAMADA Y, et al. Elevation of serum KL-6 glycoprotein or surfactant protein-D in adult T-cell leukemia with distinct pulmonary complications[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2009, 218(2):99-105.