

KL-6、IL-17 与 CTD-ILD 的相关性研究

刘兴许, 李梅华, 任朝凤, 王蔚平, 李丽, 柏媛, 张春梅, 蒋菁, 郑章敏, 周冬玉
(昆明市第一人民医院呼吸与危重症医学科, 云南昆明 650011)

[摘要] **目的** 比较 KL-6、IL-17 在 CTD-ILD 与 CTD 中表达水平的差异, 探讨 KL-6、IL-17 在 CTD-ILD 中的诊断价值, 并分析 KL-6、IL-17 与肺弥散功能的相关性, 为 CTD-ILD 的诊断和病情严重程度的评估提供依据。**方法** 选取 2022 年 9 月 1 日至 2024 年 01 月 31 日就诊于昆明市第一人民医院的患者。总共收集结缔组织病合并间质性肺疾病患者 30 例, 纳为实验组, 即 CTD-ILD 组; 总共收集结缔组织病患者 39 例, 纳为对照组, 即 CTD 组。采用 ELISA 双夹心抗体法检测 KL-6、IL-17, 将收集数据进行相关性分析。**结果** (1) CTD-ILD 组的血清 KL-6、IL-17 高于 CTD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (2) KL-6 与 DLCO%pred 之间存在负相关关系 ($P < 0.05$), IL-17 与 DLCO%pred 不存在相关关系。 (3) 通过绘制受试者工作特性曲线 (ROC) 显示: KL-6、IL-17 对诊断 CTD-ILD 的 AUC 分别为 0.902、0.656。**结论** KL-6、IL-17 可作为诊断 CTD-ILD 的指标, 其中, KL-6 的诊断价值高于 IL-17。KL-6 可作为评价肺弥散功能严重程度的指标; 而 IL-17 不能作为评价肺弥散功能严重程度的指标。

[关键词] 结缔组织病合并间质性肺疾病; 血清涎液糖链抗原-6; 白介素-17

[中图分类号] R563.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)10-0111-05

Correlation Between KL-6, IL-17 and CTD-ILD

LIU Xingxu, LI Meihua, REN Chaofeng, WANG Weiping, LI Li, BO Yuan, ZHANG Chunmei,
JIANG Jing, ZHENG Zhangmin, ZHOU Dongyu
(Dept. of Respiratory and Critical Care Medicine, The 1st People's Hospital of Kunming,
Kunming Yunnan 650011, China)

[Abstract] **Objective** To compare the expression levels of KL-6 and IL-17 in CTD-ILD and CTD, to explore the diagnostic value of KL-6 and IL-17 in CTD-ILD, and to analyze the correlation between KL-6 and IL-17 and pulmonary diffusion function, provide a basis for the diagnosis and severity assessment of CTD-ILD. **Methods** Patients who visited Kunming First People's Hospital between September 1, 2022, and January 31, 2024, were selected. A total of 30 patients with connective tissue diseases combined with interstitial lung disease were collected for the experimental group, referred to as the CTD-ILD group. 39 patients with connective tissue diseases were collected for the control group, referred to as the CTD group. The ELISA double-sandwich antibody method was used to detect KL-6 and IL-17, and correlation analysis was performed on the collected data. **Results** (1) Serum KL-6 and IL-17 levels in the CTD-ILD group were higher than those in the CTD group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). (2) There is a negative correlation between KL-6 and DLCO%pred, while there is no correlation between IL-17 and DLCO%pred ($P < 0.05$). (3) The receiver operating characteristic curve (ROC) analysis showed that the AUC for KL-6 and IL-17 in diagnosing CTD-ILD were 0.902 and 0.656, respectively. **Conclusion** KL-6 and IL-17 can serve as indicators for diagnosing CTD-ILD, with KL-6 having a higher diagnostic value than IL-17. KL-6 can be used to assess the severity of lung diffusion function,

[收稿日期] 2024-07-20

[基金项目] 昆明市科技局科研基金项目(2023-1-NS-030)

[作者简介] 刘兴许(1996~), 女, 云南腾冲人, 在读硕士研究生, 住院医师, 主要从事呼吸科临床工作。

[通信作者] 李梅华, E-mail: 524396521@qq.com

while IL-17 is not suitable for evaluating the severity of lung diffusion function.

[**Key words**] Connective tissue disease combined with interstitial lung disease; Krebs von den lungen-6; Interleukin-17

间质性肺疾病(interstitial lung disease, ILD)是以肺间质炎症为特征的弥漫性肺疾病^[1], 主要侵犯肺泡及肺泡周围组织, 导致肺泡-毛细血管功能丧失, 并随着病程进展, 最终导致肺纤维化^[2]。结缔组织病(connective tissue disease, CTD)可累及全身多种器官和组织, 以结缔组织和血管的慢性炎症为病理特点。因为肺含有丰富的纤维结缔组织和血管, 因此, CTD常累及肺^[3], 其中ILD则是CTD累及肺部的最常见的并发症^[4], 在CTD-ILD患者中, 因CTD类型及ILD组织学类型不同, 其临床表现、影像学、病理类型等存在差异, 可表现出不同的预后和转归^[4]。随着CTD-ILD病程进展, 患者肺功能呈进行性下降, 且不可逆转, 最终可发展为呼吸衰竭, 导致患者生活质量下降和加重患者经济负担, 最后危及生命^[5], 许多研究表明, CTD-ILD的死亡率较单纯CTD的死亡率明显增加^[6]。为提高患者生活质量、改善患者预后, 早期诊断至关重要。在众多诊断CTD-ILD的辅助检查中, 血清标志物与HRCT检查、肺功能检测等比较, 更加方便易行、经济等, 且无辐射、禁忌症少等优点, 适合各类人群, 可以作为CTD人群定期复诊时常规筛查指标。近几年来, 很多研究表明KL-6、IL-17在ILD诊断中有价值^[7-8]。但目前KL-6在临床上并不常规作为CTD-ILD的诊断标准, 也不将其当做CTD患者门诊随访时常规复查指标, 缺乏大量的临床资料证实其在CTD-ILD中的应用; IL-17对CTD-ILD的诊断的研究多应用于动物模型实验中, 临床应用实验相对较少, 并且二者联合研究更是相对较少, 本研究旨在证实KL-6、IL-17在CTD-ILD中的诊断价值, 同时证明其与CTD-ILD的肺弥散功能严重程度是否相关, 为临床提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

入选 2022 年 09 月 01 日至 2024 年 01 月 31 日就诊于昆明市第一人民医院, 并诊断为结缔组织病合并间质性肺疾病或者结缔组织病的患者。总共收集结缔组织病合并间质性肺疾病患者 30 例, 纳为实验组, 即 CTD-ILD 组; 总共收集结缔组织

病患者 39 例, 纳为对照组, 即 CTD 组。

入组标准^[9]: (1)自愿签署知情同意书。(2)年龄在 18 岁~90 岁之间。(3)符合CTD诊断标准的患者。(4)诊断为ILD的患者。

排除标准: (1)其他原因(过敏、病毒感染)所致的间质性肺炎, 合并肺部感染性疾病、支气管哮喘等肺部疾病; (2)合并心肌梗死、恶性肿瘤等疾病; (3)出现多器官功能衰竭; (4)不能配合相关检查者; (5)妊娠及哺乳期患者。伦理批号: YLS2024-038。

1.2 实验

1.2.1 试剂 白介素 17 检测试剂和血清涎液化糖链抗原-6 测定试剂由长沙微米生物科技有限公司提供。

1.2.2 方法 收集入组患者空腹 12 h 后的静脉血 5 mL, 离心机 3000 r/min/分钟离心 10 min, 取上层血清放置在冻存管中, 冰冻于-80 °C 冰箱。对冻存标本进行解冻, 解冻结束后, 采用 ELISA 双抗体夹心法检测 KL-6、IL-17。

1.2.3 肺功能检测 所有入组患者进行肺功能检测前, 再次排除肺功能检测的禁忌症, 由具有肺功能操作资质的医生统一进行操作, 采用德国耶格肺功能检测仪进行操作。肺弥散功能障碍的标准为: 一氧化碳弥散量占预计值的百分比(DLCO%pred)。

1.3 观测指标

(1)比较CTD组和CTD-ILD组的一般资料(性别、年龄), (2)比较CTD组和CTD-ILD组的KL-6、IL-17; (3)分析KL-6、IL-17与DLCO%pred的相关性。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析, 数据表示: 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ (正态分布)或者 $M(P_{25}, P_{75})$ (非正态分布), 计数资料用频数和率表示。计量资料(正态分布): 两样本间比较使用 t 检验。计量资料(不符合正态分布): 两样本比较使用两独立样本秩和检验(Mann-Whitney U 检验); 计数资料比较采用卡方检验; 正态分布的两变量之间的相关性分析采用 pearson 相关, 两变量间有一个变量是非正态分布或者有一个变量是等级资料的相关分析采用 Spearman 相关分析, 使用受试者工作特性曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析各项指标的 diagnostic 价值, $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CTD 组、CTD-ILD 组一般资料比较

本实验一共纳入 69 例患者, 根据是否患有 ILD 分为 CTD-ILD 组 (30 例) 和 CTD 组 (39 例)。CTD-ILD 组: 男 16 例, 女 14 例, 年龄 (65.17 ± 10.15) 岁; CTD 组: 女 24 例, 男 15 例, 年龄 (62.85 ± 12.61) 岁。CTD 组、CTD-ILD 组在性别、年龄之间无统计学差异 ($P > 0.05$), 见表 1。

2.2 CTD-ILD 组、CTD 组 KL-6、IL-17 资料对比

2 组血清 KL-6、IL-17 结果提示: CTD-ILD

表 1 CTD-ILD 组和 CTD 组一般资料对比 [$\bar{x} \pm s/M(P_{25}-P_{75})$]

Tab. 1 Comparison of general information between the two groups [$\bar{x} \pm s/M(P_{25}-P_{75})$]

参数	CTD-ILD 组	CTD 组	统计量(t/χ^2)	P
例数(n)	30	39	-	-
年龄(岁)	65.17 ± 10.15	62.85 ± 12.61	0.823	0.413
性别				
男 [$n(\%)$]	16(53.33)	15(38.46)		
女 [$n(\%)$]	14(46.67)	24(61.54)	1.516	0.218

组的血清 KL-6、IL-17 均高于 CTD 组, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2、图 1。

表 2 CTD-ILD 组、CTD 组 KL-6、IL-17 资料对比 [$M(P_{25}-P_{75})$]

Tab. 2 Comparison of KL-6 and IL-17 data between the two groups [$M(P_{25}-P_{75})$]

参数	CTD-ILD	CTD	统计量(Z)	P
KL-6(U/L)	620.56(496.36, 861.98)	255.00(153.23, 371.17)	-6.456	<0.001*
IL-17(pg/mL)	8.56(6.71, 11.33)	6.96(4.48, 10.15)	-2.504	0.012*

* $P < 0.05$ 。

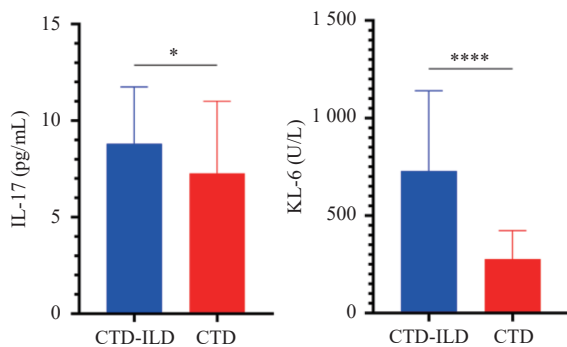


图 1 组血清 KL-6、IL-17 结果

Fig. 1 Result of KL-6, IL-17 of two groups

* $P < 0.05$, **** $P < 0.001$ 。

2.3 KL-6、IL-17 与 DLCO%pred 的相关性分析

Spearman 相关性分析结果显示, KL-6 ($r = -0.794$, $P < 0.001$) 与 DLCO%pred 之间存在负相关关系; IL-17 ($r = -0.165$, $P = 0.087$) 与 DLCO%pred 不存在相关关系, 见表 3。

表 3 KL-6、IL-17 与 DLCO%pred 的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis of KL-6, IL-17 and DLCO%pred

参数	DLCO%pred	
	Spearman 系数	P
KL-6	-0.794	< 0.001*
IL-17	-0.165	0.087

* $P < 0.05$ 。

2.4 KL-6、IL-17 在 CTD-ILD 中诊断价值的描述 (ROC 曲线)

通过绘制受试者工作特性曲线 (ROC) 显示: KL-6 对诊断 CTD-ILD 的 AUC 为 0.902, 其 95% 的置信区间为 0.830-0.974, 最佳截断值 405.44 U/mL, 此时灵敏度为 90%、特异度为 82.1%。IL-17 对诊断 CTD-ILD 的 AUC 为 0.656, 95% 的置信区间为 0.548 ~ 0.764, 最佳截断值 6.56 pg/mL, 此时灵敏度为 86.7%、特异度为 46.7%, 见表 4 和图 2。

表 4 KL-6、IL-17 在 CTD-ILD 中的诊断价值

Tab. 4 Diagnostic value of KL-6 and IL-17 in CTD-ILD

参数	AUC	Cut-off	灵敏度 (%)	特异度 (%)	95% CI	
					上限	下限
KL-6(U/L)	0.902	405.44	90	82.1	0.830	0.974
IL-17(pg/mL)	0.656	6.56	86.7	46.7	0.548	0.764

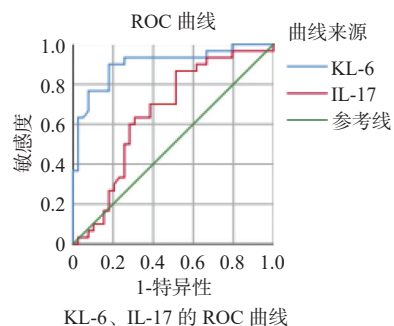


图 2 KL-6、IL-17 在 CTD-ILD 的诊断价值

Fig. 2 Diagnostic value of KL-6 and IL-17 in CTD-ILD

3 讨论

结缔组织病合并间质性肺疾病(CTD-ILD)是因为肺间质异常或纤维化而导致的自身免疫性疾病的集合^[10],是结缔组织病(CTD)的常见肺部并发症^[4]。CTD-ILD早期可无临床症状或仅仅表现为相应的结缔组织病的症状,行肺功能检查和胸部CT检查无明显异常,但随着患者病程进展,患者肺功能进行性下降,且此改变不可逆转,从而使患者生活质量下降和经济负担加重,最终导致死亡。为提高CTD患者的生活质量,降低其死亡率,需早期诊断ILD。

血清涎液化糖链抗原-6(KL-6)由上皮黏蛋白1(mucin 1, MUC1)基因编码^[11],主要表达在细支气管上皮细胞和II型肺泡上皮细胞。当II型肺泡上皮细胞受损或者显著增生时, KL-6的表达水平较正常人明显增加,并可通过受损的基底膜释放入血^[8, 12]。大量表达的KL-6通过转化生长因子 β 信号传导途径促进肺纤维化和抑制肺成纤维细胞的凋亡^[13],同时促进成纤维细胞的增值和分化,促进细胞外基质过度沉积,最终导致肺结构受损。本研究通过纳入30例CTD-ILD患者和39例CTD患者,发现KL-6在CTD-ILD组的表达水平明显高于CTD组,且差异具有统计学意义; Spearman相关性分析结果显示: KL-6与CTD-ILD两者之间有相关性, KL-6与DLC0%pred呈负相关; 使用ROC曲线对其诊断价值进行评估,发现KL-6对CTD-ILD的诊断价值高(AUC = 0.902),最佳截断值405.44 U/mL。得出KL-6与CTD-ILD在诊断CTD-ILD中有一定价值,且KL-6越高,CTD-ILD的弥散功能越差。本研究结果符合KL-6在体内表达与释放的病理生理,有一定的理论基础支撑。国内外部分研究^[14-22]指出KL-6在CTD-ILD的诊断有价值, KL-6可评估患者肺功能的严重程度。WAKAMATSU等研究指出: 当患者KL-6 \geq 1000 U/mL时,患者肺功能下降明显^[8, 23]。本研究结果与之相符。

IL-17是白介素家族中的一员,可表达于成纤维细胞、支气管上皮细胞等表面^[24]。本研究通过比较CTD组和CTD-ILD组中IL-17的差异,发现IL-17在CTD组和CTD-ILD组之间有统计学差异($P < 0.05$); 同时进行Spearman相关性分析,发现IL-17($r = 0.196, P = 0.042$)与CTD-ILD有相关性,但与DLC0%无相关性($r = -0.165, P =$

0.087),使用ROC曲线对其诊断价值进行评估,发现IL-17(AUC=0.656)对CTD-ILD有诊断价值,但诊断价值较低。有外国学者研究表明^[25]: IL-17在CTD-ILD表达水平增高,这与本研究结果一致。有研究表明^[24, 26]IL-17可参与气道高反应性和其他病理变化(包括杯状细胞化生和气道重塑)。IL-17可使与纤维化密切相关的细胞因子高表达,从而参与肺纤维化的形成,促进肺纤维化的发生^[27-28]。也有研究表明^[29]: 在RA-CTD的肺活检研究中发现,在成纤维细胞积聚和纤维化区域的IL-17表达增加。上述研究结果为本研究提供了理论基础,本研究为上述研究提供了临床依据。

本研究证实KL-6、IL-17可作为诊断CTD-ILD的指标,其中KL-6的诊断价值较高,并且KL-6可作为评价肺弥散功能严重程度的指标。因此, KL-6、IL-17有望成为临床上CTD患者早期发现ILD的指标,并且KL-6可成为评判CTD-ILD肺功能变化的指标。

[参考文献]

- [1] 中华医学会呼吸病学分会,中国医师协会呼吸医师分会. 间质性肺疾病多学科讨论规范中国专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2023, 46(12): 1176-1188.
- [2] Podolanczuk A J, Wong A W, Saito S, et al. Update in Interstitial Lung Disease 2020[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2021, 203(11): 1343-1352.
- [3] Shao T, Shi X, Yang S, et al. Interstitial Lung Disease in Connective Tissue Disease: A Common Lesion With Heterogeneous Mechanisms and Treatment Considerations [J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 684699.
- [4] 邹庆华,路跃武,周京国,等. 结缔组织病相关间质性肺疾病诊疗规范[J]. *中华内科杂志*, 2022, 61(11): 1217-1223.
- [5] Wijsenbeek M, Suzuki A, Maher T M. Interstitial lung diseases[J]. *Lancet (London, England)*, 2022, 400(10354): 769-786.
- [6] Li L, Zuo X, Luo H, et al. Mortality trend of inpatients with connective tissue diseases: 2005-2014[J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban = Journal of Central South University Medical sciences*, 2017, 42(8): 927-933.
- [7] 张慧琴,刘学军. IL-17和IL-6在大鼠肺纤维化过程中

- 的动态表达及意义 [J]. *中国医药导报*, 2012, 9(10): 24-25+8.
- [8] 张静静, 李青, 王丹阳, 等. 血清 KL-6 水平检测在临床间质性肺病诊断中的研究进展 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(04): 198-204.
- [9] 杨红娇. IL-27、KL-6 在诊断 CTD-ILD 中的价值 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2019.
- [10] Cerro Chiang G, Parimon T. Understanding interstitial lung diseases associated with connective tissue disease (CTD-ILD): Genetics, cellular pathophysiology, and biologic drivers [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(3): 2405.
- [11] 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]. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 1988, 18(3): 203-216.
- [12] 朱雪华, 秦亦如, 农骐郢, 等. 血清涎液化糖链抗原 6 对肺部疾病预警作用研究进展 [J]. *中国职业医学*, 2023, 50(01): 104-109.
- [13] Inoue Y, Kaner R J, Guiot J, et al. Diagnostic and prognostic biomarkers for chronic fibrosing interstitial lung diseases with a progressive phenotype [J]. *Chest*, 2020, 158(2): 646-659.
- [14] Aloisio E, Braga F, Puricelli C, et al. Prognostic role of Krebs von den Lungen-6 (KL-6) measurement in idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review and meta-analysis [J]. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2021, 59(8): 1400-1408.
- [15] Fathi M, Barbasso Helmers S, Lundberg I E. KL-6: a serological biomarker for interstitial lung disease in patients with polymyositis and dermatomyositis [J]. *Journal of Internal Medicine*, 2012, 271(6): 589-597.
- [16] Salazar G A, Kuwana M, Wu M, et al. KL-6 but not CCL-18 is a predictor of early progression in systemic sclerosis-related interstitial lung disease [J]. *The Journal of Rheumatology*, 2018, 45(8): 1153-1158.
- [17] Kim H C, Choi K H, Jacob J, et al. Prognostic role of blood KL-6 in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease [J]. *PLoS One*, 2020, 15(3): e0229997.
- [18] 赵静, 王静, 李鸿斌. 血清涎液化糖链抗原-6 水平与类风湿关节炎伴间质性肺病患者免疫功能的相关性研究 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2021, 25(10): 676-679.
- [19] 马芹, 徐建华, 王芬, 等. 结缔组织病间质性肺病血清涎液化糖链抗原-6 肺泡表面活性蛋白 A 和 D 及白细胞介素-6 的变化及意义 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2017, 21(1): 46-49.
- [20] 刘玉梦, 许爱国, 赵玉苗, 等. 血清 KL-6 对多发性肌炎/皮肌炎合并肺部疾病的临床价值 [J]. *中国实用医刊*, 2017, 44(10): 10-12.
- [21] 吴雪, 武丽君, 罗采南, 等. 涎液化糖链抗原-6 在结缔组织病相关间质性肺病诊断中的应用价值 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(40): 3172-3175.
- [22] 杨红娇, 董昭兴, 王颖, 等. IL-27、KL-6 在诊断 CTD-ILD 中的价值 [J]. *国际呼吸杂志*, 2020, 40(12): 911-916.
- [23] Wakamatsu K, Nagata N, Kumazoe H, et al. Prognostic value of serial serum KL-6 measurements in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Respiratory Investigation*, 2017, 55(1): 16-23.
- [24] Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, et al. IL-17 cytokine family [J]. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2004, 114(6): 1265-1273.
- [25] Tezcan D, Sivrikaya A, Ergü n D, et al. Evaluation of serum interleukin-6 (IL-6), IL-13, and IL-17 levels and computed tomography finding in interstitial lung disease associated with connective tissue disease patients [J]. *Clinical Rheumatology*, 2021, 40(11): 4713-4724.
- [26] Tan H L, Rosenthal M. IL-17 in lung disease: friend or foe? [J]. *Thorax*, 2013, 68(8): 788-790.
- [27] 张瑾, 宋宁, 高耐芬, 等. IL-17 和 IL-6 在特发性肺纤维化患者中的表达及意义 [J]. *临床肺科杂志*, 2016, 21(02): 210-212+6.
- [28] 高耐芬, 郭洁, 张瑾, 等. 特发性肺纤维化患者免疫球蛋白 A、TGF- β 1、IL-6 和 IL-17 水平变化的意义 [J]. *河北医药*, 2019, 41(06): 881-883+7.
- [29] Zhang J, Wang D, Wang L, et al. Profibrotic effect of IL-17A and elevated IL-17RA in idiopathic pulmonary fibrosis and rheumatoid arthritis-associated lung disease support a direct role for IL-17A/IL-17RA in human fibrotic interstitial lung disease [J]. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2019, 316(3): L487-497.