

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.019

特发性肺纤维化患者血清淀粉样蛋白 A 和钙卫蛋白水平变化及临床意义研究

孙巧敏, 张晓霞

河北省邢台市第三医院检验科, 河北邢台 054000

摘 要:目的 探讨血清淀粉样蛋白 A(SAA)和钙卫蛋白水平变化与特发性肺纤维化(IPF)的关系。方法 收集 2016—2019 年该院的 IPF 患者 25 例为 IPF 组,同时收集肺部其他疾病患者 25 例为疾病对照组和纤维支气管镜、影像学检查正常者 25 例为健康对照组。测定所有研究对象血清 SAA 和钙卫蛋白水平并进行比较,分析二者与肺功能指标的相关性。建立受试者工作特征(ROC)曲线和 Kaplan-Meier 生存曲线分析 SAA、钙卫蛋白水平与 IPF 的关系。结果 IPF 组 SAA、钙卫蛋白水平高于疾病对照组和健康对照组($P<0.05$)。SAA、钙卫蛋白水平与 IPF 患者肺功能指标呈负相关($P<0.05$),SAA 水平与高密度脂蛋白呈负相关($P<0.05$),与总胆固醇、低密度脂蛋白和三酰甘油呈正相关($P<0.05$)。SAA 和钙卫蛋白联合诊断 IPF 的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值均较高。Kaplan-Meier 生存曲线结果提示 $SAA\geq 6.11\text{ }\mu\text{g/mL}$ 和钙卫蛋白 $\geq 2.39\text{ }\mu\text{g/mL}$ 与出院后 IPF 患者死亡比例升高有关。结论 IPF 患者血清 SAA 和钙卫蛋白水平升高可能预示 IPF 患者肺功能不良,也与患者治疗后病死率有关。SAA 和钙卫蛋白水平监测有助于 IPF 诊断和判断患者的临床转归。

关键词:特发性肺纤维化; 血清淀粉样蛋白 A; 钙卫蛋白; 肺功能; 脂质代谢
中图法分类号:R563 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)14-2061-04

Changes and clinical significance of serum amyloid A and calprotectin levels in patients with idiopathic pulmonary fibrosis

SUN Qiaomin, ZHANG Xiaoxia

Department of Clinical Laboratory, Xingtai Third Hospital, Xingtai, Hebei 054000, China

Abstract:**Objective** To investigate the relationship between serum amyloid A (SAA) and calprotectin levels and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). **Methods** A total of 25 patients with IPF in the hospital from 2016 to 2019 were collected as the IPF group. At the same time, 25 patients with other lung diseases were collected as the disease control group and 25 patients with normal fiberoptic bronchoscopy and imaging examination were collected as the healthy control group. The serum SAA and calprotectin levels of all subjects were measured and compared, and the correlation between the two and lung function indexes was analyzed. Establish receiver operating characteristic (ROC) curve and Kaplan-Meier survival curve were used to analyze the relationship between SAA, calprotectin levels and IPF. **Results** The levels of SAA and calprotectin in the IPF group were higher than those in the disease control group and the healthy control group ($P<0.05$). SAA and calprotectin levels were negatively correlated with pulmonary function indexes in IPF patients ($P<0.05$). SAA level was negatively correlated with high-density lipoproteins ($P<0.05$), and positively correlated with total cholesterol, low-density lipoproteins and triacylglycerols ($P<0.05$). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of SAA and calprotectin combined to diagnose IPF were high. Kaplan-Meier survival curve results suggest that $SAA\geq 6.11\text{ }\mu\text{g/mL}$ and calprotectin $\geq 2.39\text{ }\mu\text{g/mL}$ were related to the increase in the proportion of deaths after discharge from the hospital. **Conclusion** Increased levels of serum SAA and calprotectin in IPF patients may indicate poor lung function in IPF patients, and are also related to the mortality of patients after treatment. The monitoring of SAA and calprotectin levels helps to diagnose IPF and judge the clinical outcome of patients.

Key words: idiopathic pulmonary fibrosis; serum amyloid A; calprotectin; lung function; lipid metabolism

作者简介:孙巧敏,女,主管技师,主要从事呼吸系统疾病生物学标志物相关研究。
本文引用格式:孙巧敏,张晓霞.特发性肺纤维化患者血清淀粉样蛋白 A 和钙卫蛋白水平变化及临床意义研究[J].检验医学与临床,2021,18(14):2061-2064.

特发性肺纤维化(IPF)是一种慢性、进行性、间质性肺纤维化疾病,起病隐匿,病情逐渐加重或急性加重,以呼吸功能不可逆受损和典型的间质性肺炎为特点,诊断时无法预测其进展程度,预后不良^[1]。近年来已经有研究提示多种炎症相关因子可作为 IPF 预后的生物标志物,但迄今为止仍没有有效的蛋白质类标志物可以准确预测该病的转归^[2]。血清淀粉样蛋白 A(SAA)是一种急性时相反应蛋白,有报道显示在慢性阻塞性肺疾病、肺癌和结缔组织肺病中存在 SAA 过表达^[3]。钙卫蛋白是一种异源二聚体复合物,属于 S-100 家族,也参与炎症反应。研究表明钙卫蛋白常作为炎症肠病的生物标志物,也和系统性硬化症、皮肤纤维化等多种纤维化疾病有关^[4]。SAA、钙卫蛋白与 IPF 的关系尚未明确,本研究拟探讨 SAA、钙卫蛋白在 IPF 患者中的变化,并分析其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016—2019 年于本院呼吸科进行诊治的 IPF 患者 25 例为 IPF 组,其中男 16 例,女 9 例;平均年龄(66.3±8.5)岁。患者符合 2002 年《特发性肺(间质)纤维化诊断和治疗指南(草案)》^[5]中的相关诊断标准。排除合并肺部其他感染、心血管并发症、胃部疾病或有阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征病史等,从而使用他汀类药物进行治疗的患者。

同期收集本院与 IPF 组性别、年龄等基本资料匹配的,经诊断为非 IPF 的肺部其他疾病患者 25 例为疾病对照组,其中男 15 例,女 10 例;肺癌 3 例,结缔组织病间质性肺炎 8 例,细菌性肺炎 7 例,慢性阻塞性肺疾病 7 例;平均年龄(63.8±7.2)岁。并收集伴有胸痛、胸闷等自觉症状,但纤维支气管镜和影像学检查均正常的患者 25 例为健康对照组,其中男 17 例,女 8 例,平均年龄(64.7±6.5)岁。本研究经本院

伦理委员会批准实施,批准件号为 K2015237。所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法 收集并记录所有研究对象的详细资料,包括人口学资料和临床病历资料。临床病历资料主要包括血液学指标(血常规、肝功能、肾功能及血脂水平)和主要肺功能指标[第 1 秒用力呼气量(FEV1)、用力肺活量(FVC)和 FEV1/FVC 等]。所有研究对象出院后临床随访 12 个月。清晨抽取所有研究对象外周静脉血 2 mL,促凝后 4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min,分离血清并使用对应的酶联免疫吸附试验试剂盒检测 SAA 和钙卫蛋白。SAA 试剂盒购自上海泽叶生物科技有限公司(货号 ZY-SAA-Hu,生产批号 AS200525);钙卫蛋白试剂盒购于瑞士 Bohlmann 公司(货号 EK-CAL,生产批号 EK200417),检测过程严格按照说明书进行操作。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 相关分析 SAA 和钙卫蛋白水平与所选指标间的相关性;绘制 SAA、钙卫蛋白诊断 IPF 的受试者工作特征(ROC)曲线,计算曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值;采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析随访情况。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血液学和肺功能指标比较 IPF 组和疾病对照组肺功能较健康对照组明显变差(*P* < 0.05);与疾病对照组和健康对照组比较,IPF 组高密度脂蛋白水平降低,总胆固醇、低密度脂蛋白、三酰甘油水平升高(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 各组肺功能和血液学指标比较

分组	<i>n</i>	FEV1(L)	FVC(L)	FEV1/FVC(%)	C-反应蛋白(mg/L)	红细胞沉降率(mm/h)
IPF 组	25	2.13±0.34 ^a	2.72±0.26 ^a	69.4±4.85 ^a	6.72±2.46	18.4±4.6
疾病对照组	25	2.25±0.27 ^a	3.02±0.31 ^a	74.8±4.77 ^a	6.38±2.05	17.1±4.1
健康对照组	25	2.51±0.23	3.11±0.39	88.4±4.02	4.33±1.28	14.2±3.7

分组	<i>n</i>	D-二聚体(mg/L)	血肌酐(μmol/L)	乳酸脱氢酶(U/L)	总胆固醇(mmol/L)	高密度脂蛋白(mmol/L)
IPF 组	25	0.47±0.11	63.1±11.4	197.6±31.7	6.27±1.46 ^{ab}	0.87±0.15 ^{ab}
疾病对照组	25	0.46±0.12	61.9±8.7	177.8±29.4	4.43±0.97	1.27±0.26
健康对照组	25	0.43±0.08	58.6±9.3	170.3±28.2	4.14±0.85	1.34±0.31

分组	<i>n</i>	低密度脂蛋白(mmol/L)	三酰甘油(mmol/L)	红细胞(×10 ¹² /L)	白细胞(×10 ⁹ /L)	血小板(×10 ⁹ /L)	血红蛋白(g/L)
IPF 组	25	4.86±0.74 ^{ab}	1.69±0.37 ^{ab}	4.52±0.61	8.13±1.54	195.1±38.9	136.2±13.8
疾病对照组	25	2.64±0.43	1.20±0.25	4.53±0.77	8.45±1.34	194.1±40.9	129.8±14.3
健康对照组	25	2.38±0.52	0.83±0.12	4.47±0.31	6.82±0.93	186.2±43.3	133.6±15.1

注:与健康对照组比较,^a*P* < 0.05;与疾病对照组比较,^b*P* < 0.05。

2.2 各组 SAA 和钙卫蛋白水平比较 IPF 组 SAA 水平为 $(6.02 \pm 1.58) \mu\text{g/mL}$,明显高于疾病对照组的 $(4.17 \pm 1.39) \mu\text{g/mL}$ 和健康对照组的 $(3.64 \pm 1.83) \mu\text{g/mL}$,差异有统计学意义($t=2.414, P=0.019; t=2.631, P=0.013$),但疾病对照组和健康对照组比较差异无统计学意义($t=0.472, P=0.953$);IPF 组血清钙卫蛋白水平为 $(2.63 \pm 0.27) \mu\text{g/mL}$,明显高于疾病对照组的 $(1.05 \pm 0.18) \mu\text{g/mL}$ 和健康对照组的 $(0.78 \pm 0.15) \mu\text{g/mL}$,差异有统计学意义($t=3.187, P=0.002; t=3.458, P<0.001$),但疾病对照组和健康对照组比较差异无统计学意义($t=0.689, P=0.532$)。

2.3 SAA、钙卫蛋白与肺功能的相关性分析 SAA、钙卫蛋白水平与主要肺功能指标均呈负相关($P<0.05$),见表 2。

表 2 SAA、钙卫蛋白与肺功能的相关性分析				
指标	SAA		钙卫蛋白	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
FEV1	-0.375	0.009	-0.329	0.019
FVC	-0.394	0.005	-0.337	0.018
FEV1/FVC	-0.352	0.013	-0.291	0.023

2.4 SAA 与主要脂类指标的相关性分析 SAA 与高密度脂蛋白水平呈负相关($P<0.05$),与总胆固醇、

低密度脂蛋白和三酰甘油水平均呈正相关($P<0.05$),见表 3。

表 3 SAA 与主要脂类指标相关性分析结果		
指标	<i>r</i>	<i>P</i>
总胆固醇	0.308	0.024
高密度脂蛋白	-0.401	0.005
低密度脂蛋白	0.359	0.012
三酰甘油	0.296	0.031

2.5 ROC 曲线分析 SAA 和钙卫蛋白联合诊断 IPF 的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值均较高。见表 4。

2.6 Kaplan-Meier 生存曲线分析 随访截止时共有 8 例 IPF 患者死亡。以 SAA=6.11 $\mu\text{g/mL}$ 为最佳临界值,所有 IPF 患者中有 11 例 SAA $\geq 6.11 \mu\text{g/mL}$,其中 6 例在随访期间死亡;14 例 IPF 患者 SAA $< 6.11 \mu\text{g/mL}$,其中 2 例在随访期间死亡。以钙卫蛋白=2.39 $\mu\text{g/mL}$ 为最佳临界值,所有 IPF 患者中有 15 例钙卫蛋白 $\geq 2.39 \mu\text{g/mL}$,其中 5 例在随访期间死亡;10 例 IPF 患者钙卫蛋白 $< 2.39 \mu\text{g/mL}$,其中 3 例在随访期间死亡。Kaplan-Meier 生存曲线结果提示 SAA $\geq 6.11 \mu\text{g/mL}$ 、钙卫蛋白 $\geq 2.39 \mu\text{g/mL}$ 与出院后死亡比例升高有关,SAA、钙卫蛋白水平越高,存活率越低。见图 1。

表 4 ROC 曲线分析							
项目	最佳临界值	AUC	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	95%CI
SAA	6.11 $\mu\text{g/mL}$	0.768	76.0	88.0	86.4	78.6	0.638~0.899
钙卫蛋白	2.39 $\mu\text{g/mL}$	0.823	84.0	68.0	72.4	80.9	0.711~0.936
联合检测	—	0.874	88.0	72.0	75.9	85.7	0.779~0.968

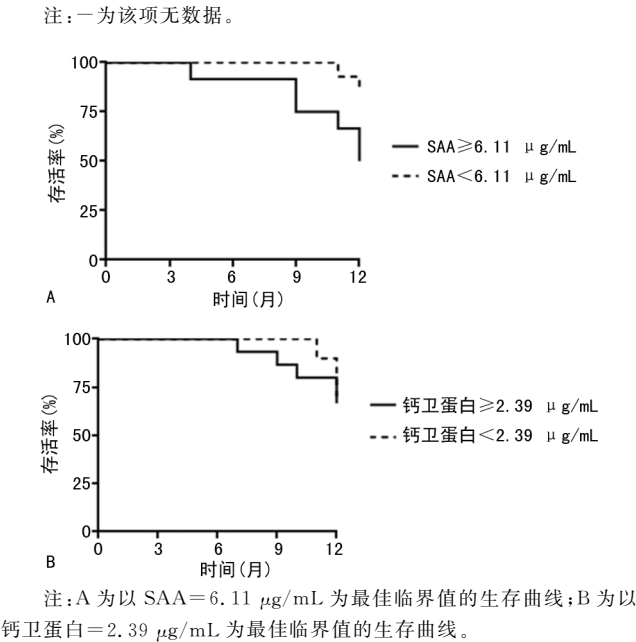


图 1 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果

3 讨 论

炎症状态的持续在 IPF 中发挥重要作用,与炎症

有关的分子有潜力作为 IPF 的生物标志物。本研究收集 IPF 患者的详细临床指征以分析 SAA、钙卫蛋白水平与 IPF 诊断和临床转归间的潜在关系。

SAA 属载脂蛋白家族异构体,主要由肝脏中激活的单核细胞产生,参与调节炎症过程和脂质代谢过程,被认为是系统性炎症活动最敏感的指标之一^[6]。有研究显示慢性阻塞性肺病、肺癌相关的慢性炎症性肺病患者中 SAA 水平明显升高,SAA 水平可能与肺部疾病关系密切^[3,7]。本研究结果显示,IPF 组 SAA 水平高于疾病对照组和健康对照组($P<0.05$)。对于 IPF 等纤维化性肺疾病中 SAA 水平的升高机制,目前还没有明确的解释。有研究称 IPF 患者中 SAA 的过表达可能与纤维化有关,因为 SAA 不仅在肝脏中产生,还由肺成纤维细胞产生^[8];慢性阻塞性肺病等与低氧刺激相关的肺部疾病中 SAA 水平也会升高^[3,9],提示 IPF 患者存在的低氧分压状态也可能使 SAA 水平升高。多种因素造成的高水平 SAA 可诱导金属蛋白酶(MMP)-1、MMP-5 和 MMP-7 等多种基质金属蛋白酶的过度生成,最终通过参与炎症调节

而参与 IPF 的发展^[2]。

钙卫蛋白是由 S100A8 和 S100A9 亚基组成的异源二聚体复合物,可由巨噬细胞、单核细胞和中性粒细胞产生,属于损伤相关分子模式蛋白,可促进炎症反应^[10]。近年来对钙卫蛋白的研究多集中在炎症性肠病方面,在肺部疾病中的研究有限。在肺纤维化中,S100A9 激活肺成纤维细胞增殖,并通过晚期糖基化终末产物受体(RAGE)诱导促炎细胞因子的产生,从而参与纤维化激活与进展^[11]。RAGE 是 S-100 家族蛋白受体,参与免疫反应并加速炎症反应。此外,RAGE 的可溶性亚型通过干扰受体结合而对钙卫蛋白的促炎信号产生保护反应^[12],IPF 患者钙卫蛋白水平发生改变,提示钙卫蛋白参与了 IPF 的发病机制。已有研究显示 IPF 患者肺泡灌洗液中钙卫蛋白 S100A9 亚基水平高于结节病患者和体检健康者,且 S100A9 水平与患者肺功能降低有关^[13]。本研究结果显示,IPF 患者的血清钙卫蛋白水平高于疾病对照组和健康对照组($P < 0.05$),与之前的研究结果相似。IPF 患者血清钙蛋白升高的确切机制尚不清楚,可能与 IPF 患者中性粒细胞和单核/巨噬细胞数量增加有关。已经证实支气管肺泡灌洗液中中性粒细胞增多与 IPF 预后不良相关,钙卫蛋白水平也可能与 IPF 患者疾病严重程度有关^[13]。

SAA 和钙卫蛋白的产生来源及机制存在差异,尚未有研究发现二者存在直接相关性,但二者均通过不同途径参与了 IPF 的进展,本研究结果显示,以 SAA 和钙卫蛋白联合检测 IPF 时,其 AUC 为 0.874,诊断 IPF 的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值均达到较高水平。

本研究结果还显示,IPF 患者主要肺功能指标(FEV1 和 FEV1/FVC)降低,SAA 和钙卫蛋白水平与上述 2 个主要肺功能指标均呈负相关,提示 SAA 和钙卫蛋白水平升高可能预示 IPF 患者肺功能不良。除肺功能外,本研究还发现 IPF 患者存在血清脂质代谢异常情况,SAA 水平与高密度脂蛋白呈负相关,与总胆固醇、低密度脂蛋白和三酰甘油呈正相关,提示 SAA 可能通过参与脂类代谢影响患者预后。Kaplan-Meier 生存曲线结果显示,入院就诊时 SAA、钙卫蛋白水平越高,患者死亡风险越高,这表明二者与 IPF 患者生存结局有关。针对透析患者的研究显示,血液中存在的 SAA 会与高密度脂蛋白结合,形成的复合物对巨噬细胞有很高的亲和力,可将巨噬细胞从血液中清除,从而增加了患者心血管疾病的发生风险^[14]。心肌梗死和肺动脉高压等心血管事件是 IPF 患者常见伴发病^[15],IPF 患者存在的炎症状态、缺氧状态、脂质代谢异常及肺纤维化状态等,可使 SAA 和钙卫蛋白水平升高,进而又促进炎症进展和肺纤维化进程,同时血液中存在的高水平 SAA-高密度脂蛋白复合物,致使患者心血管疾病的发生风险提高,增加患者病死率。

参考文献

[1] 李小龙,王荣丽.特发性肺纤维化发病机制的研究进展

[J]. 山东医药,2017,57(32):110-113.

- [2] YASMINA B,WHITE E S,BERNARD S D,et al. MMP-7 is a predictive biomarker of disease progression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. ERJ Open Res,2017,3(1):00074-2016.
- [3] LIN T L,CHEN W W,DING Z R,et al. Correlations between serum amyloid A,C-reactive protein and clinical indices of patients with acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Clin Lab Anal,2019,33(4):e22831.
- [4] 韩晓芳,刘洋,谭艳,等. 钙卫蛋白及抗中性粒细胞胞浆抗体联合检测对炎症性肠病的诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11):1286-1287.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会. 特发性肺(间质)纤维化诊断和治疗指南(草案)[J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,25(7):387-389.
- [6] LEE J Y,HALL J A,KROEHLING L,et al. Serum amyloid A proteins induce pathogenic Th17 cells and promote inflammatory disease[J]. Cell,2020,183(7):2036-2039.
- [7] 王文君,聂启鸿,曾玲,等. 血清淀粉样蛋白 A 联合肿瘤标志物检测对肺癌的临床诊断价值[J]. 肿瘤基础与临床,2019,32(3):256-258.
- [8] LAKOTA K,CARNS M,PODLUSKY S,et al. Serum amyloid A is a marker for pulmonary involvement in systemic sclerosis[J]. PloS One,2015,10(1):e0110820.
- [9] KURAMOTO E,KINAMI S,ISHIDA Y,et al. Continuous positive nasal airway pressure decreases levels of serum amyloid A and improves autonomic function in obstructive sleep apnea syndrome[J]. Int J Cardiol,2009,135(3):338-345.
- [10] KOPI T A,SHAHROKH S,MIRZAEI S,et al. The role of serum calprotectin as a novel biomarker in inflammatory bowel diseases:a review study[J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench,2019,12(3):183-189.
- [11] 全紫瑶,陈菁,武小杰,等. 慢性阻塞性肺疾病患者血清 S100A8/A9 和 sRAGE 水平变化及临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2020,43(2):165-170.
- [12] SCHMIDT A M,YAN S D,YAN S F,et al. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses[J]. J Clin Invest,2001,108(7):949-955.
- [13] BARGAGLI E,OLIVIERI C,CINTORINO M,et al. Calgranulin B (S100A9/MRP14):a key molecule in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Inflammation,2011,34(2):85.
- [14] MILINKOVIC N,SARIC-MATUTINOVIC M,IGNJATOVIC S,et al. Correlation between serum amyloid A and high density lipoprotein composition in dialysis patients[J]. Clin Chim Acta,2019,493(1):S466.
- [15] 石涵宇,董彦,魏路清,等. 肺纤维化合并肺气肿综合征并发肺动脉高压的 Meta 分析[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2019,12(3):289-295.

(收稿日期:2020-10-16 修回日期:2021-02-18)