

• 论 著 •

慢性咳嗽患者的呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应特征<sup>\*</sup>陈慧暖<sup>1</sup>, 洪春霖<sup>1△</sup>, 洪敏俐<sup>1</sup>, 郑伟彬<sup>1</sup>, 黄小华<sup>1</sup>, 陈文喜<sup>1</sup>, 高凌云<sup>1</sup>, 刘朝辉<sup>2</sup>

(1. 福建中医药大学附属漳州市中医院检验科 363000; 2. 福建中医药大学中西医结合临床研究生, 福州 350013)

**摘要:**目的 探讨慢性咳嗽患者的呼吸道嗜酸性粒细胞炎症反应特征。方法 使用诱导痰嗜酸性粒细胞计数检查 123 例慢性咳嗽患者的呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应情况, 其中咳嗽变异性哮喘(CVA)44 例、嗜酸性粒细胞性支气管炎(EB)27 例、上气道咳嗽综合征(UACS)26 例、变应性咳嗽(AC)17 例和胃食管反流相关性咳嗽(GERC)9 例。收集 56 例典型哮喘(CA)患者和 25 例健康者的诱导痰嗜酸性粒细胞计数结果进行统计学比较。结果 慢性咳嗽患者呼吸道嗜酸性粒细胞炎症反应的阳性率为 0.487 8(60/123), 其中, CVA 组和 EB 组分别为 0.750 0(33/44)和 1.000 0(27/27), 其他病因组均为 0.000 0。CVA 组与 EB 组之间的差异具有统计学意义( $P=0.005$ ), CVA 组与 CA 组[0.821 4(46/56)]之间的差异无统计学意义( $P=0.507$ ), EB 组与 CA 组之间差异具有统计学意义( $P=0.019$ ), CVA 组、EB 组分别与 UACS 组、AC 组、GERC 组、健康对照组比较, 差异具有统计学意义( $P$ 值均为 0.000)。呼吸道嗜酸性粒细胞炎症反应患者的诱导痰嗜酸性粒细胞比值, EB 组低于 CVA 组( $Z=-2.551$ ,  $P=0.011$ )和 CA 组( $Z=-3.190$ ,  $P=0.001$ ), CVA 组与 CA 组之间差异无统计学意义( $Z=-0.801$ ,  $P=0.423$ )。结论 嗜酸性粒细胞性炎症反应是慢性咳嗽患者的一种主要的呼吸道炎症反应类型, 主要见于 CVA 和 EB 患者。CVA 和 EB 的呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应程度不同。

**关键词:**咳嗽; 嗜酸细胞; 炎症; 气道

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)14-1538-02

The features of eosinophilic airway inflammation in patients with chronic cough<sup>\*</sup>Chen Huinuan<sup>1</sup>, Hong Chunlin<sup>1△</sup>, Hong Minli<sup>1</sup>, Zheng Weibin<sup>1</sup>, Huang Xiaohua<sup>1</sup>, Chen Wenxi<sup>1</sup>, Gao Lingyun<sup>1</sup>, Liu Chaohui<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Zhangzhou Traditional Chinese Medicine Hospital, Affiliated Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Zhangzhou Fujian 363000, China; 2. Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350013, China)

**Abstract:** Objective To explore the features of eosinophilic airway inflammation in patients with chronic cough. **Methods** Eosinophilic airway inflammation in 123 patients with chronic cough were assessed using the induced sputum eosinophil counts, including 44 cases with cough variant asthma(CVA), 27 cases with eosinophilic bronchitis(EB), 26 cases with upper airway cough syndrome(UACS), 17 cases with atopic cough(AC), 9 cases with gastroesophageal reflux related cough (GERC). Difference of induced sputum eosinophil cell counts between chronic cough and healthy controls( $n=25$ ), chronic cough and classic asthma(CA,  $n=56$ ) were compared. **Results** Positive rate of eosinophilic airway inflammation was 0.487 6(60/123) in patients with chronic cough, among whom there were 0.750 0(33/44) with CVA and 1.000 0 with EB. Eosinophil airway inflammation was not found in other cause of chronic cough and health controls. Positive rate of eosinophilic airway inflammation was significantly increased in EB compared with CVA ( $P=0.005$ ) and CA ( $P=0.019$ ), but was not significantly different between CVA and CA( $P=0.507$ ). CVA and EB were significantly increased compared with other cause of chronic cough and health controls respectively( $P=0.000$ ). Induced sputum eosinophil ratio was significantly decreased in EB with eosinophil airway inflammation compared with CVA( $P=0.011$ ) and CA ( $P=0.001$ ), but was not significantly different between CVA and CA( $P=0.423$ ). **Conclusion** Eosinophilic airway inflammation was a common type of airway inflammation in chronic cough, which was mainly found in CVA and EB. Severity of eosinophilic airway inflammation were different in EB and CVA.

**Key words:** cough; eosinophils; inflammation; airway

慢性咳嗽是一种常见的呼吸道症状,严重影响患者的生活、学习和工作。由于慢性咳嗽病因复杂,不同病因引起的慢性咳嗽存在着不同的呼吸道炎症反应,表现为不同的炎症细胞浸润<sup>[1]</sup>,因此,呼吸道炎症反应的评价对慢性咳嗽的病因诊断和治疗起着关键作用。嗜酸性粒细胞性炎症反应是呼吸道疾病中一种常见的炎症反应类型。本研究采用诱导痰技术及细

胞学检查的方法,探讨了慢性咳嗽患者嗜酸性粒细胞性呼吸道炎症反应的特征,报道如下。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 根据中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《咳嗽的诊断与治疗指南(草案)》<sup>[2]</sup>和 2006 年美国胸科医师学会(ACCP)制定的慢性咳嗽临床实践指南<sup>[3]</sup>为诊断标准,收

<sup>\*</sup> 基金项目:福建省自然科学基金资助项目(2008J0314);福建省中医药科技重点课题资助项目(wzzz0909)。△ 通讯作者, E-mail: hcl7210@yahoo.com.cn。

集 2008 年 5 月至 2010 年 9 月在本院呼吸科就诊的由单一病因所致慢性咳嗽患者和哮喘患者。其中慢性咳嗽患者 123 例,男 49 例,女 74 例,中位年龄 40 岁(17~72 岁)。包括咳嗽变异型哮喘(CVA)44 例、嗜酸性粒细胞性支气管炎(EB)27 例、上呼吸道咳嗽综合征(UACS)26 例、变应性咳嗽(AC)17 例、胃食管反流相关性咳嗽(GERC)9 例。典型哮喘(CA)患者 56 例,诊断标准依据中华医学会 2008 年颁布的《支气管哮喘防治指南》<sup>[4]</sup>。同时收集体检健康者 25 例作为健康对照组。健康对照组纳入标准:体格检查正常,无慢性呼吸系统疾病,近 8 周无呼吸道感染,胸部 X 线检查无明显异常,血常规正常,肺功能检查正常,无消化系统疾病、过敏性或遗传性变应性疾病,无吸烟史。

**1.2 方法** (1)痰诱导方法:采用本实验室报道的方法<sup>[5]</sup>,受试者吸入 200  $\mu$ g 沙丁胺醇 15 min 后,超声雾化吸入 3.5%高渗盐水 15 min,每隔 5 min 以及任何时间患者自觉有痰时嘱其擤鼻涕、漱口后用力深咳,用带有刻度的无菌干燥杯留取痰液立即送实验室处理(或在 4  $^{\circ}$ C 冰箱保存不超过 2 h)。(2)诱导痰嗜酸性粒细胞计数:痰液标本中加入等体积含 0.1%二硫

苏糖醇(DTT)的磷酸盐缓冲液(PBS),漩涡振荡混匀。待痰液完全液化后,记录痰液的容量,然后 1 500 r/min 离心 10 min,留取上清液待测。PBS 溶液 50 mL 悬浮沉淀,经 48  $\mu$ m 筛网过滤,再次离心弃去上清液,留取沉渣 1 mL。台盼蓝染色检查细胞活力,存活细胞大于 50%为合格标本。细胞悬液用牛-鲍氏计数板计数炎症细胞总数,并用细胞涂片离心机制成涂片,瑞氏染色,油镜下分类 400 个非上皮细胞(包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞),计算嗜酸性粒细胞比值。嗜酸性粒细胞比值大于或等于 0.030 0 判断为嗜酸性粒细胞性炎症反应<sup>[6]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS16.0 进行统计分析。气道嗜酸性粒细胞性炎症反应的阳性率采用卡方检验。嗜酸性粒细胞比值的统计数据采用中位数和四分位数间距表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 慢性咳嗽患者嗜酸性粒细胞性呼吸道炎症反应的阳性率** 见表 1。

表 1 慢性咳嗽患者呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应的阳性率

| 项目                  | 慢性咳嗽组           | 慢性咳嗽不同病因组      |                |               |               |              | CA 组           | 健康对照组         |
|---------------------|-----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|--------------|----------------|---------------|
|                     |                 | CVA 组          | EB 组           | UACS 组        | AC 组          | GERC 组       |                |               |
| 阳性率(阳性例数/总例数)       | 0.487 8(60/123) | 0.750 0(33/44) | 1.000 0(27/27) | 0.000 0(0/26) | 0.000 0(0/17) | 0.000 0(0/9) | 0.821 4(46/56) | 0.000 0(0/25) |
| 与健康对照组比较 <i>P</i> 值 | 0.000           | 0.000          | 0.000          | >0.05         | >0.05         | >0.05        | 0.000          | —             |
| 与 CA 组比较 <i>P</i> 值 | 0.000           | 0.507          | 0.019          | 0.000         | 0.000         | 0.000        | —              | 0.000         |

—:无数据。

**2.2 呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应患者诱导痰嗜酸性粒细胞比值以中位数(四分位数间距)表示**,CVA 组、EB 组和 CA 组分别为:0.150 0(0.277 5)、0.080 0(0.085 0)和 0.167 5(0.430 0)。EB 组低于 CVA 组( $Z=-2.551, P=0.011$ )和 CA 组( $Z=-3.190, P=0.001$ ),CVA 组与 CA 组之间差异无统计学意义( $Z=-0.801, P=0.423$ )。

3 讨 论

Parameswaran 等<sup>[6]</sup>将呼吸道炎症反应分为嗜酸性粒细胞性炎症反应、嗜酸性粒细胞合并中性粒细胞性炎症反应和中性粒细胞性炎症反应,并把诱导痰嗜酸性粒细胞比值大于或等于 0.030 0 定义为嗜酸性粒细胞性炎症反应。嗜酸性粒细胞是参与 IgE 型过敏反应调节的主要细胞之一,当 IgE 与相应抗原结合诱发过敏反应时,会产生嗜酸性粒细胞趋化因子 A(ECF-A)募集嗜酸性粒细胞,并释放组胺酶分解组胺,释放芳基硫酸酯酶分解白三烯消除过度的炎症反应<sup>[7]</sup>。CVA 和 EB 都是与变应性因素有关的疾病,病理研究表明,CVA 和 EB 患者气管黏膜层存在嗜酸性粒细胞浸润<sup>[8]</sup>。但是,EB 诊断的主要依据是患者具有呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应而没有呼吸道高反应性,CVA 诊断的主要依据是患者具有气道高反应性。Yoo 等<sup>[9]</sup>研究结果显示,CVA 包含了部分非嗜酸性粒细胞性炎症反应患者。因此,CVA 患者呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应的阳性率低于 EB 患者。UACS 导致咳嗽的机制是由于对上呼吸道咳嗽反射传入神经纤维受到来自鼻腔、鼻窦分泌物的机械性刺激引起咳嗽。时翠芹等<sup>[10]</sup>报道 UACS 患者主要表现为中性粒细胞性炎症反应。在作者研究的 10 例患者中有 2 例具

有嗜酸性粒细胞性炎症反应。在《咳嗽的诊断与治疗指南(草案)》中,UACS 的诊断标准未明确 UACS 患者的诱导痰中嗜酸性粒细胞增高。既往的研究也缺乏气管壁细胞浸润的组织病理学证据,患者吸入的分泌物刺激下呼吸道咳嗽受体的研究证据不足<sup>[11]</sup>。因此,本研究把符合 UACS 诊断且诱导痰嗜酸性粒细胞比例增高( $\geq 0.030 0$ )的慢性咳嗽患者诊断为多病因型,即 UACS 合并 EB。AC 患者的诊断由 Fujimura 等<sup>[12]</sup>于 1992 年提出,目前对其病理机制研究尚不清楚。AC 的症状和体征与 EB 相同,两者的鉴别诊断主要依靠诱导痰嗜酸性粒细胞计数,AC 不表现呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应。本研究结果也显示 AC 组诱导痰嗜酸性粒细胞比例与健康对照组的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究中,GERC 患者未发现嗜酸性粒细胞性炎症反应,这可能是因为 GERC 是由食管-支气管反射引起的神经源性炎症反应引起神经反射所致的咳嗽,没有引起嗜酸性粒细胞浸润。

有研究显示,CA 患者的诱导痰嗜酸性粒细胞比值高于 CVA 患者,而本研究中具有呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应的 CVA 患者诱导痰嗜酸性粒细胞比值与 CA 患者的差异无统计学意义( $P>0.05$ ),这与 De Diego 等<sup>[13]</sup>的结果相同。诱导痰嗜酸性粒细胞比例增高与哮喘的严重程度相关<sup>[14]</sup>。因此,这些研究结果的不同可能与纳入研究的 CA 患者病情轻重程度不同有关。病理学研究发现,EB 患者气管黏膜固有层嗜酸性粒细胞浸润密度明显低于 CVA 患者<sup>[8]</sup>,这可能是 EB 患者的诱导痰嗜酸性粒细胞比例低于 CVA 患者和 CA 患者的原因。

总之,呼吸道嗜酸性粒细胞性炎症反应(下转第 1542 页)

照,与 HCV 在同一系统进行提取、扩增和检测,可有效监测整个体系,防止假阴性产生,相比其他同类方法,具有更大的应用推广价值。另外,采用巢式 PCR 扩增 HCV DNA,应用 2 对特异性引物序列,可很好地降低假阳性的产生。

结果表明,核酸扩增及微流芯片方法结果显示,阳性率比较 ELISA 法和胶体金法增高,且差异有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),与 CLIA 方法比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),并且阳性份数相同(均为 73 份),核酸扩增及微流芯片方法阳性份数没有比 CLIA 方法增高,可能是由于本研究检测标本少,且标本中没有感染 HCV 在 4.9~50.9 d 的“窗口期”献血者有关。核酸扩增及微流芯片方法结果稳定、准确、灵敏度高、假阴性低、重复性好,适合无偿献血者 HCV 的筛查。但由于检测成本高及对检测环境和人员要求较高,目前尚不能作为常规筛查方法<sup>[10]</sup>。总之,核酸扩增及微流芯片检测方法对 HCV 感染的早期诊断是有益的,它能提高 HCV 早期感染的检出率和结果的准确性,此法优于 CLIA 法和荧光定量 PCR 法<sup>[11-12]</sup>,可以作为 ELISA 法可疑标本作进一步检测的方法。

参考文献

[1] 姚仁南,陈复兴,黄晓静,等.两种试剂检测抗-HCV 在丙型肝炎诊断中的意义[J].临床输血与检验,2009,11(1):21-22.  
[2] 姚仁南,张建辉,陈复兴,等.丙型病毒性肝炎核心抗原检测试剂的初步应用[J].东南国防医药,2008,10(3):168-169.  
[3] Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, et al. Detection of HIV and HCV infections among antibody-negative US blood donors by nucleic acid amplification testing[J]. N Engl J Med, 2004, 351(8): 760-768.  
[4] Pisani G, Marino F, Cristiano K, et al. External quality assessment

for the detection of HCV RNA, HIV RNA and HBV DNA in plasma by nucleic acid amplification technology: a novel approach [J]. Vox Sang, 2008, 95(1): 8-12.

[5] Vermeulen M, Lelie N, Sykes W, et al. Impact of individual-donation nucleic acid testing on risk of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa[J]. Transfusion, 2009, 49(6): 1115-1125.  
[6] Gaudy-Graffin C, Lesage G, Kousignian I, et al. Use of an anti-hepatitis C virus (HCV) IgG avidity assay to identify recent HCV infection[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(9): 3281-3287.  
[7] Duru MU, Aluyi H, Anukam K. Rapid screening for co-infection of HIV and HCV in pregnant women in Benin City, Edo State, Nigeria[J]. Afr Health Sci, 2009, 9(3): 137-142.  
[8] 孟宪军,史志旭,祝凯捷,等. HCV 抗体酶联免疫诊断试剂的质量评价[J].临床输血与检验,2008,10(3):245-247.  
[9] 姚根宏,栾建凤,朱培元,等.丙型肝炎病毒核酸扩增及微流芯片检测方法的建立[J].临床输血与检验,2010,12(4):289-291.  
[10] Phikulsod S, Octa S, Tirawatnapong T, et al. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donors[J]. Tansfusion, 2009, 49(6): 1126-1135.  
[11] 姚仁南,陈复兴,陈玲,等.化学发光免疫分析法检测献血者 HCV 抗体的应用评价[J].中华全科医学,2011,9(3):450-453.  
[12] 郑宏波.实时荧光定量 PCR 检测丙型肝炎病毒[J].实用全科医学,2005,3(5):460-461.

(收稿日期:2011-03-23)

(上接第 1539 页)

是慢性咳嗽的一种重要的炎性反应类型,检查诱导痰嗜酸性粒细胞是对慢性咳嗽患者进行病因诊断的重要方法。慢性咳嗽呼吸道嗜酸性粒细胞性炎性反应主要见于 CVA 患者和 EB 患者,而且表现出不同程度的呼吸道嗜酸性粒细胞性炎性反应。

参考文献

[1] 洪春霖,陈慧暖,洪敏俐.诱导痰的实验室检查及在慢性咳嗽中的应用[J].国际检验医学杂志,2009,30(9):865-866.  
[2] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.咳嗽的诊断与治疗指南(草案)[J].中华结核和呼吸杂志,2005,28(11):738-744.  
[3] Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, et al. Diagnosis and management of cough executive summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines[J]. Chest, 2006, 129(1): 1-23.  
[4] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗和管理方案)[J].中华结核和呼吸杂志,2008,31(3):177-185.  
[5] 洪春霖,陈慧暖,洪敏俐,等.不同病因的慢性咳嗽患者诱导痰细胞学分析[J].中国医师进修杂志,2010,33(31):32-34.  
[6] Parameswaran K, Pizzichini E, Pizzichini MM, et al. Clinical judgement of airway inflammation versus sputum cell counts in patients with asthma[J]. Eur Respir J, 2000, 15(3): 486-490.  
[7] 陶义训.免疫学和免疫学检验[M].北京:人民卫生出版社,1989.

[8] 罗炜,赖克方,陈如冲,等.嗜酸粒细胞性支气管炎气道炎症病理特征的探讨[J].中国病理和生理学杂志,2006,22(5):943-947.  
[9] Yoo Y, Koh YY, Kang H, et al. Sputum eosinophil counts and eosinophil cationic protein levels in cough-variant asthma and in classic asthma, and their relationships to airway hypersensitivity or maximal airway response to methacholine[J]. Allergy, 2004, 59(10): 1055-1062.  
[10] 时翠芹,余莉,魏为利,等.气道炎症在上气道咳嗽综合征发生中的作用[J].中国呼吸与危重监护杂志,2009,8(3):256-258.  
[11] 张罗,王向东,韩德明.导致慢性上气道咳嗽综合征的鼻腔鼻窦疾病[J].中国呼吸与危重监护杂志,2008,7(6):404-407.  
[12] Fujimura M, Sakamoto S, Matsuda T. Bronchodilator-resistant cough in atopic patients: bronchial reversibility and hyperresponsiveness[J]. Intern Med, 1992, 31(4): 447-452.  
[13] De Diego A, Martínez E, Perpiná M, et al. Airway inflammation and cough sensitivity in cough-variant asthma[J]. Allergy, 2005, 60(11): 1407-1411.  
[14] National Heart, Lung, and Blood Institute. National asthma education and prevention program expert panel report 3: guidelines for the diagnosis and management of asthma[J]. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 2007: 18.

(收稿日期:2011-02-26)